

Zur Morphologie, Biologie
und bakterienfreien Züchtung des Nematoden
Panagrellus zymosiphilus Brunold 1950

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der philosophischen Doktorwürde

vorgelegt der

Philosophischen Fakultät II der Universität Zürich

von

Elsbeth Brunold

aus Maladers (Graub.) und Aarau

Begutachtet von Herrn Prof. Dr. E. Hadorn

Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg

1954



Sonderdruck aus „Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere“
42. Band, 4. Heft, 1954, Seite 373—420

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg

Aus dem Zoologisch-vergleichend anatomischen Institut der Universität Zürich.

ZUR MORPHOLOGIE, BIOLOGIE UND BAKTERIENFREIEN
ZÜCHTUNG DES NEMATODEN
PANAGRELLUS ZYMOSIPHILUS BRUNOLD 1950.

Von

ELSBETH BRUNOLD.

Mit 15 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. Januar 1953.)

Inhalt.

	Seite
I. Einleitung	374
II. Systematik	374
III. Artbeschreibung von <i>Panagrellus zymosiphilus</i>	374
IV. Vergleich der bekannten Vertreter der Gattung <i>Panagrellus</i>	379
V. Morphologie	382
1. Technik	382
2. Äußere Gestalt und Körperbedeckung	383
3. Verdauungstraktus	383
a) Vorderdarm S. 383. — b) Mitteldarm S. 384.	
4. Geschlechtsorgane	384
a) Weibliche Geschlechtsorgane S. 384. — b) Männliche Geschlechtsorgane S. 385.	
5. Drüsen	385
6. Morphologische Abweichungen vom Normaltypus	386
VI. Biologie	387
1. Kulturmethode	387
2. Nährböden	387
3. Lebenszyklus	389
4. Einfluß der Temperatur auf das Lebensalter	390
5. Einfluß der Temperatur auf die Vermehrung	391
6. Einfluß des Kulturmediums auf die Empfindlichkeit gegenüber Extremtemperaturen	392
7. Einfluß der Hefe auf die Vermehrung und das Wachstum	393
8. Vermehrungsrate	395
9. Häutungen	395
10. Geschlechtsverhältnis	396
11. Sexuelles Verhalten	398
12. Bewegung, Lebensweise	398
13. Körpergröße und Variabilität	400
14. Sinnesleistungen	403
15. Zystenbildung	403
16. Übertragung	404
VII. Zuchtversuche (Rein- und Mischkulturen)	405
1. Ziel	405
2. Geschichtlicher Überblick	406

	Seite
3. Eigene Versuche	406
a) Versuchsreihe I (Vorversuche) S. 406. — b) Versuchsreihe II (Behandlung mit Merfen, Merthiolat, Desogen und Antibiotika) S. 407. — c) Versuchsreihe III (Behandlung mit Sulfathiazol, Chloramin und Antibiotika) S. 411. — d) Versuchsreihe IV (Behandlung mit UV-Strahlen) S. 415.	
Zusammenfassung	415
Literatur	417

I. Einleitung¹.

Unsere Untersuchung befaßt sich mit einer Nematodenart, *Panagrellus zymosiphilus* (syn. *Anguillula zymosiphila*), die vor einigen Jahren im Zoologisch-vergleichend anatomischen Institut der Universität Zürich neu aufgefunden wurde. Zu einer vorläufigen Mitteilung (BRUNOLD 1950) wurde eine kurze Artbeschreibung mit Abbildungen veröffentlicht. In der vorliegenden Arbeit wird die Morphologie und Biologie genauer untersucht. Es wird auch über Versuche berichtet, *P. zymosiphilus* bakterienfrei in Reinkultur und in Mischkultur mit einem reinen Hefestamm zu züchten.

II. Systematik.

Zunächst wurde unsere Art (BRUNOLD 1950) der Gattung *Anguillula* zugeteilt. Nachdem die Neubenennung dieser Gattung in *Turbatrix* PETERS 1927, bzw. ihre Aufteilung durch GOODEY (1943, 1947) in *Turbatrix* PETERS 1927 und *Panagrellus* THORNE 1938 gerechtfertigt erscheint, wird unsere Art in *Panagrellus zymosiphilus* umbenannt. Weitere Vertreter der Gattung *Panagrellus* sind nach GOODEY (1943, 1951): *P. redivivus* (L. 1767), *P. ludwigii* (DE MAN 1910), *P. silusiae* (DE MAN 1913), *P. nepenthicola* (MENZEL 1922), *P. leucocephalus* (STEINER 1936), *P. pycnus* (THORNE 1938) und *P. redivivoides* (GOODEY 1943).

III. Artbeschreibung von *Panagrellus zymosiphilus*.

(Vgl. Maßzahlen in Tabelle 1 und die Erläuterungen dazu in Abb. 1.)

Körper annähernd spindelförmig, kopfwärts wenig, schwanzwärts spitz auslaufend (Abb. 3 und 4). Kutikula geringelt. Kopf nicht oder

¹ Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. E. HADORN, möchte ich für die wohlwollende Förderung dieser Arbeit und das Interesse, das er ihr entgegenbrachte, meinen herzlichsten Dank aussprechen. — Wertvolle Anregung erhielt ich von Herrn Prof. Dr. T. WIKÉN, Bakteriologisches Institut der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich. Auch ihm möchte ich herzlich danken. Weiterer Dank gebührt den Herren Professoren Dr. T. GOODEY, Harpenden, D. H. J. STAMMER, Erlangen und Herrn Dr. R. MENZEL, Wädenswil, für die Mithilfe bei der Bestimmung des Nematoden. Den Herren Dr. E. C. DOUGHERTY, Berkeley, und Prof. Dr. V. NIGON, Lyon, verdanke ich nützliche Ratschläge und Literaturhinweise. Herr M. CLAUSEN von der Versuchsstation schweizerischer Bierbrauer in Zürich hatte die Freundlichkeit, den reinen Hefestamm und weitere Materialien zu liefern. Auch ihm danke ich bestens.

Tabelle 1. Maßzahlen der geschlechtsreifen Vertreter der Gattung *Panagrellus*.
(Erläuterungen s. Abb. 1; Mittelwerte in Klammern.)

Maße	Art	<i>P. redivivus</i> (L. 1767, GOODEY 1945)		<i>P. ludwigii</i> (DE MAN 1910)		<i>P. silusiae</i> (DE MAN 1913)		<i>P. nepenthicola</i> (MENZEL 1922)	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
L μ		950—1240 (1090)	1040—1370 (1270)	930—1120	880—1350	970—1900	1140—2560	1360—1870 (1660)	2300—2880 (2530)
D μ		38—52 (44)	52—60 (57)	29—40	46—51				
O μ				175—196	158—205				
S μ				110—143	103—173				
V μ		—	(895)	—	492—899				
a		etwa 24	etwa 20	23—35	30—36	35—40	30—35	32—45,5 (36,4)	27,6—35,5 (32)
b		5—6,5	5—8	5,1—5,8	4,7—6,6	8—9	7—12	4,6—5,6 (5,1)	5,9—7,2 (6,6)
c		8—10	8—10	7,1—9	6,0—9,0	12—15	10—15	12—15,7 (14)	9,7—12 (10,8)
v %		—	66—70	—	62—69	—	62—69	—	76—82 (78,4)
Spikula (Bogenschnur)		52—55 (Abb. 2 a)	—	22 (Abb. 2 d)	—	55—62 (Abb. 2 e)	—	58,5—71 (62) (Abb. 2 b)	—
Gubernakulum μ		25—28	—	14—15 $\frac{2}{3}$ Spikula- länge	—	$\frac{1}{2}$ Spikula- länge	—	$\frac{1}{2}$ Spikula- länge	—

Tabelle 1. (Fortsetzung.)

Maße	Art	<i>P. leucocephalus</i> (STEINER 1936)		<i>P. pycnus</i> (THORNE 1938)		<i>P. redivivoides</i> (GOODEY 1943)		<i>P. zymosiphilus</i> (BRUNOLD 1950)	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
L μ		900—940	1000—1100	800—1200	1000—1400	810—1280	980—1700	730—1340 (1103)	870—2170 (1482)
D μ								40—73 (46,9)	37—97 (63,2)
O μ								152—214 (186,1)	174—219 (196,6)
S μ								96—160 (130,4)	107—180 (152,7)
V μ								—	566—1375 (1017,4)
a		27—32	20,8—23,2	21	18	23—27	17—24	18,2—33,9 (24,1)	13,6—33,1 (24,0)
b		4,9—5,5	5,9—6,4	6,8	8,0	5—6,5	5—8	4,6—7,2 (5,9)	4,5—10,3 (7,6)
c		7,4—9,7	7,6—7,9	9,0	8,5	8—10	8—10	6,7—10,1 (8,3)	6,0—15,3 (10,0)
v %		—	66—67	—	—	—	64—70	—	53,2—81,7 (68,3)
Spikula (Bogensehne)		(Abb. 2g)	—	(Abb. 2e)	—	37—45 (Abb. 2f)	—	27—36 (31,0) (Abb. 2h)	—
Gubernakulum μ		$\frac{2}{5}$ Spikulalänge	—	—	—	14—18	—	16—19 (16,9)	—

sehr wenig abgesetzt. Mundöffnung von 6 Lippen, deren jede mindestens eine Papille trägt, begrenzt (Abb. 5). Mundhöhle aus einem vorderen und

einem hinteren Teil bestehend. Auf der Grenze der beiden Abschnitte inseriert Oesophagus. Kleines, dorsales Zähnchen; ventral zwei (?) schräg untereinanderliegende kutikularisierte, leistenartige Verdickungen (Abb. 5). Oesophagus bestehend aus Korpus, Isthmus und terminalem Bulbus mit Klappenapparat. Nervenring kreuzt Isthmus. Exkretionsgefäß-System H-förmig, sehr wahrscheinlich mit Ventraldrüse. Ausführungsgang mit vielfachen Windungen auf

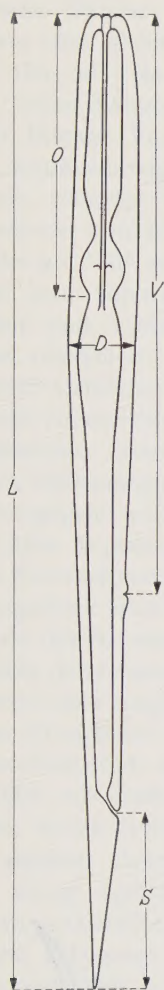


Abb. 1.

Abb. 1. Grundmaße. L ganze Körperlänge; D größter Körperdurchmesser; O Oesophaguslänge; S Schwanzlänge; V Vorderende-Vulva; a relative Körperbreite (L/D); b relative Oesophaguslänge (L/O); c relative Schwanzlänge (L/S); v Entfernung der Vulva vom Vorderende in Prozent der Gesamtlänge.

Abb. 2a—h. Spikula der Vertreter der Gattung *Panagrellus*. a *P. redivivus*; b *P. nepentcola*; c *P. pycnus*; d *P. ludwigii*; e *P. silusiae*; f *P. redivivoides*; g *P. leucocephalus*; h *P. zymosiphilus*. Vergr. 680 $\times$ (a—e und g—h) und 980 $\times$ (f).

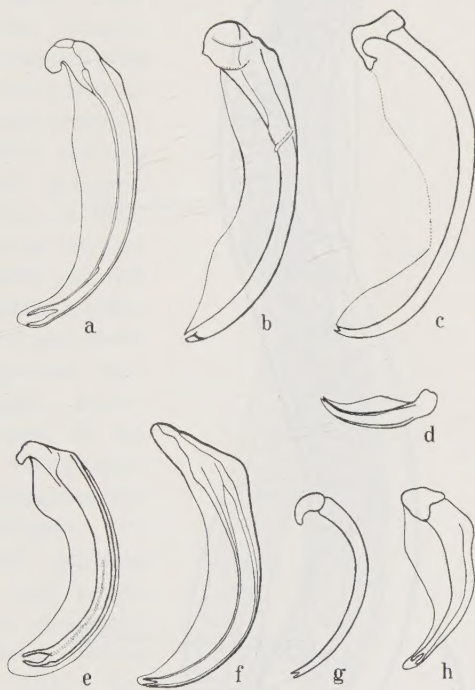


Abb. 2.

Bulbushöhe. Exkretionsporus ventral, dem kaudalen Abschnitt des Korpus benachbart. Seitenfelder und Mitteldarm mit zahlreichen, verschieden großen, stark lichtbrechenden Granulationen.

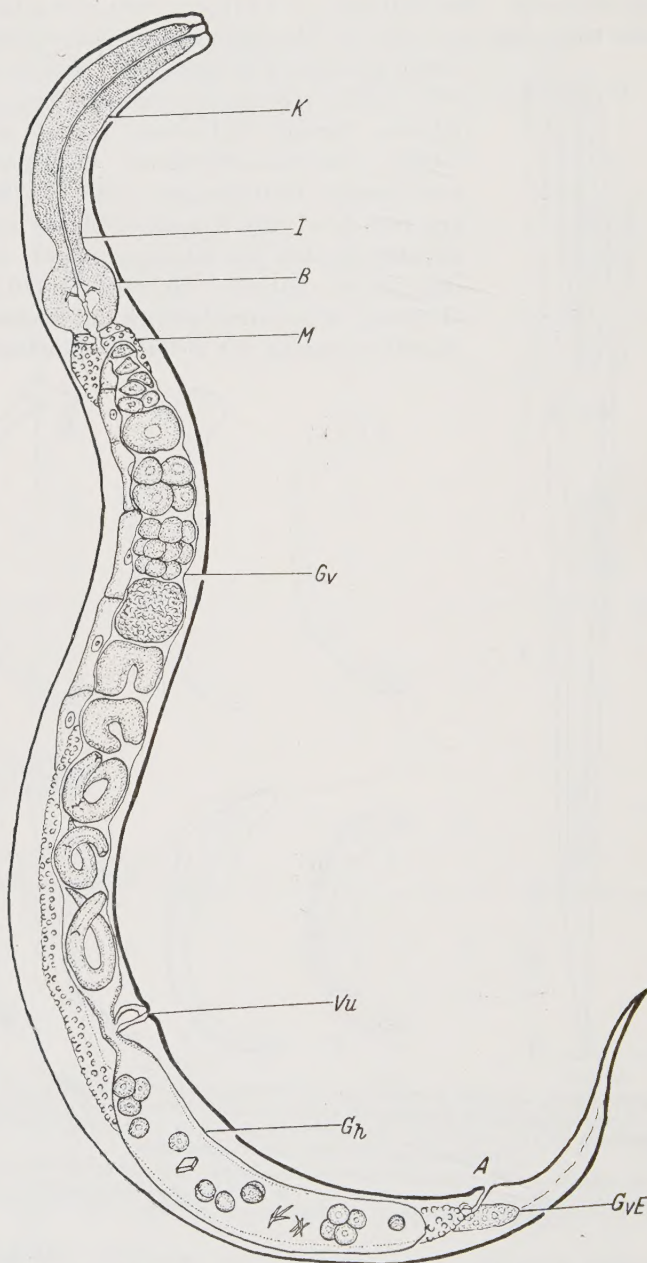


Abb. 3. Trächtiges Weibchen von *P. zymosiphilus*. *A* After; *B* Bulbus; *G_v* Vorderer Gonadenast; *G_h* Hinterer Gonadenast; *G_{vE}* Ende der vorderen Gonadenastes; *I* Isthmus; *K* Korpus; *M* Mitteldarm; *Vu* Vulva. Vergr. 180 ×.

Weibchen. Gonade mit einem vorderen und hinteren Ast, die in die gemeinsame Vagina münden (Abb. 3). Hinterer Ast gleicht sackartigem Anhang, der als Receptaculum seminis dient. Seine Länge beträgt annähernd $\frac{3}{4}$ der Distanz Vulva-After. Nur vorderer, schlauchartiger Ast als funktionierende, telogene Gonade ausgebildet. Sie erstreckt sich bis Bulbushöhe, biegt sich hier um 180° , endigt in Aftergegend. Uterus mit zahlreichen Eiern, Embryonen und schlüpfbereiten Jungen. Vagina muskulös. Vulva klappenartig ausgebildet, stark kutikularisiert (Abb. 8). Kephalervulvateil bogenförmig gerundet.

Männchen. Gonade einfach vorhanden, in Bulbusnähe um 180° gebogen, bis Aftergegend reichend (Abb. 4). Spikula (Abb. 9) paarig, dem After benachbartes Ende schmal, zweigeteilt und mit Zwillingsstück leicht verbunden. Kephalendes Ende mit dorsalem Buckel und durch Querlinie köpfchenartig abgesetzt. Spikula von zwei ungleich langen, kanalartigen Strukturen durchzogen, die im zweigeteilten Ende münden, Gubernakulum (Abb. 10) einfach; in Seitenansicht schmal, leicht S-förmig gebogen, von oben gesehen ziemlich breit. Distales Ende wenig verschmälert und eingebuchtet, proximales Ende mit zwei leicht einwärts gebogenen Fortsätzen. Sieben Schwanzpapillen in der in Abb. 6 bezeichneten Anordnung.

Die Typenexemplare befinden sich in der Sammlung des Zoologischen Museums der Universität Zürich.

IV. Vergleich der bekannten Vertreter der Gattung *Panagrellus* mit unserer neuen Art.

P. zymosiphilus unterscheidet sich von allen bekannten Panagrelliden durch

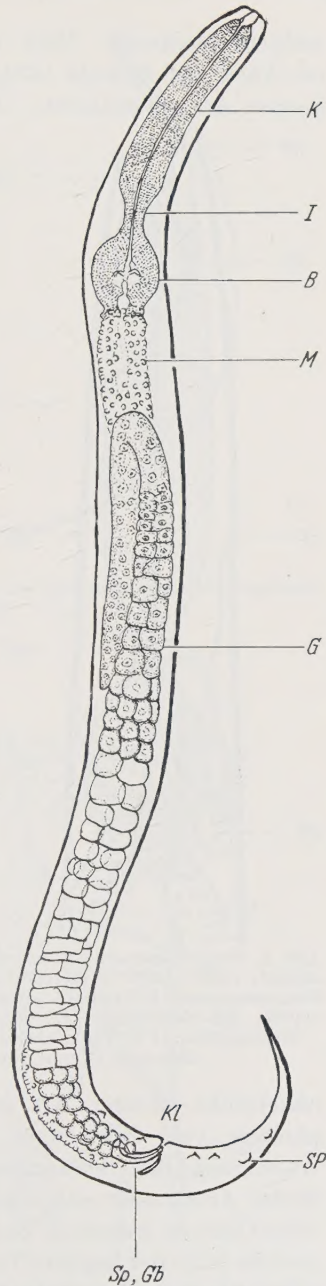


Abb. 4. Reifes Männchen von *P. zymosiphilus*. G Gonade; Kl Kloake; Sp, Gb Spikula und Gubernakulum; SP Schwanzpapillen. Übrige Symbole wie Abb. 3. Vergr. $180\times$.

mehrere Merkmale. Nach den Maßzahlen (Tabelle 1, Abb. 1) und der Form der Spikula (Abb. 2) stehen *P. redivivoides* und *P. ludwigii* unserer Art am nächsten. Die auffallend große somatische Variabilität

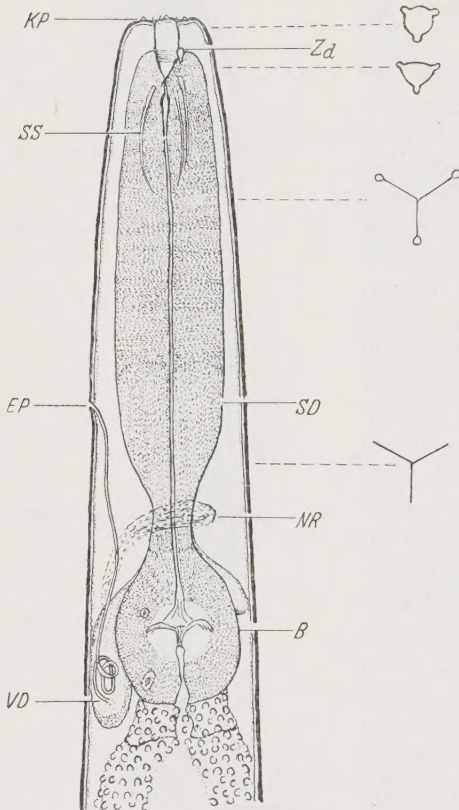


Abb. 5. Vorderkörper von *P. zymosiphilus* (Seitenansicht, rechte Seite = dorsal). *B* Bulbus mit Klappenapparat; *EP* Exkretionsporus; *KP* Kopfpapille, *NR* Nervenring; *SD* Schlunddrüse; *SS* Schlundstäbe; *VD* Ventraldrüse; *Zd* dorsales Zähnnchen. Vergr. 410 ×.

von *P. zymosiphilus* ist durch verschiedenartige Zuchtmedien bedingt (S. 394 und 401). Es wird damit erneut bestätigt (MARCINOWSKY 1906; MICOLETZKY 1921; LUDWIG 1938), daß die von DE MAN (1884) vorgeschlagenen Maßzahlen für die Klassifikation der Nematoden nur bedingten Wert besitzen. Zahlenmäßig weniger leicht faßbare morphologische Merkmale müssen ebenfalls gebührend berücksichtigt werden.

Im Bau der Gonade und des Oesophagus stimmen alle Gattungsvertreter weitgehend überein. In der Ausbildung der Mundhöhle, der weiblichen Ausführungsgänge, der Spikula und der Analgegend des Männchens hingegen bestehen wesentliche Unterschiede. Aus den Angaben der Autoren (Tabelle 1, Abb. 2; DE MAN 1910 und 1913; MENZEL 1923; STEINER 1936; THORNE 1938 und GOODEY 1943, 1945 und 1951) ergibt sich, daß *P.*

redivivoides unserer Art zweifellos am nächsten steht. Die Morphologie von Oesophagus, Gonade und Gubernakulum sowie die Anordnung der Schwanzpapillen beim Männchen scheinen sich in beiden Arten mehr oder weniger zu entsprechen. Ein deutlicher Unterschied besteht jedoch im Bau und in der Größe der Spikula. Bei *P. redivivoides* läuft der kephale Teil in ein leicht ausgezogenes, stumpfes Ende aus (Abb. 2), während die Spikula von *P. zymosiphilus* ein durch eine Querlinie abgesetztes Köpfchen besitzen. Ebenso weichen die zwei regelmäßig auftretenden, kanalartigen Längsstrukturen und die Um-

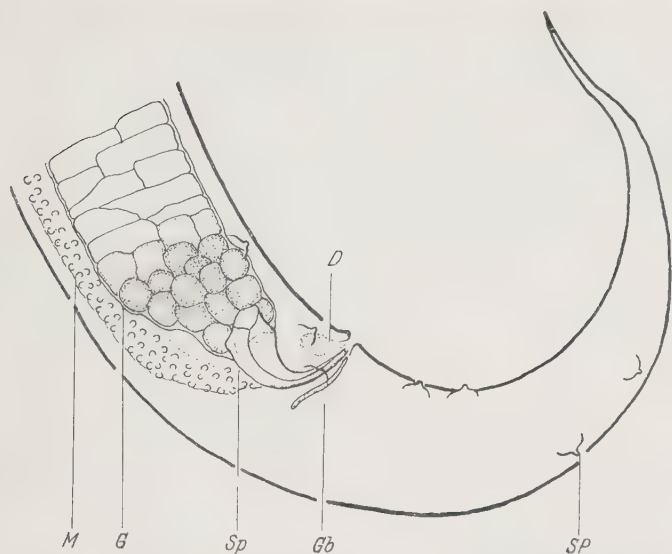


Abb. 6. Schwanz eines Männchens. *D* Drüse; *G* Gonade; *Gb* Gubernakulum; *M* Mitteldarm; *Sp* Spikula; *SP* Schwanzpapille. Vergr. 460 ×.

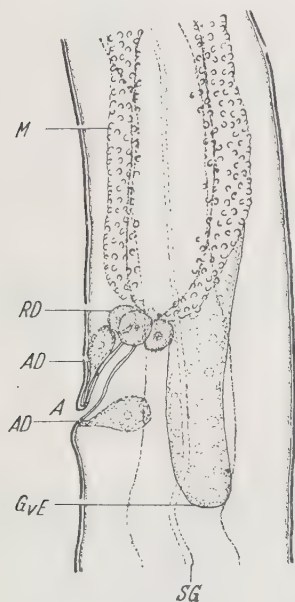


Abb. 7.

Abb. 7. Aftergegend eines Weibchens. *A* After; *AD* Analdrüse; *GvE* Ende des vorderen Gonadenastes; *M* Mitteldarm; *RD* Rektaldrüse; *SG* Seitengefäß. Vergr. 410 ×.

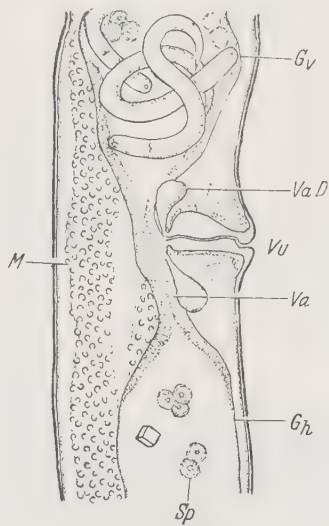


Abb. 8.

Abb. 8. Geschlechtsöffnung eines Weibchens. *Gv*, *Gh* vorderer und hinterer Gonadenast; *M* Mitteldarm; *Sp* Spermien; *Va* Vagina; *VaD* Vaginaldrüse; *Vu* Vulva. Vergr. 410 ×.

risse der Spikulahülle deutlich von der Zeichnung GOODEYS ab. Auch in der Größe unterscheiden sich die Spikula der 2 Arten. Die kürzeste Entfernung des Köpfchens vom zweigeteilten Ende beträgt für unsere Art höchstens $36\ \mu$ ($n = 21$). Sie erreicht damit kaum das für *P. redivivoides* angegebene Minimalmaß ($37\ \mu$ — $45\ \mu$). Obwohl, wie schon erwähnt, Maßzahlen von den Nahrungsbedingungen abhängen, scheint dies für die Spikula, zumindest für unsere Art, nicht zuzutreffen. Die Mittelwerte aus optimalen und pessimalen Zuchten stimmen annähernd

überein. Ein weiterer Unterschied der beiden Arten besteht in der Ausbildung der Mundhöhle (Abb. 5). Die ganze Kopfpartie von *P. zymosiphilus* entspricht am ehesten derjenigen von *P. silusiae*. Die Morphologie des weiblichen Ausführungs-

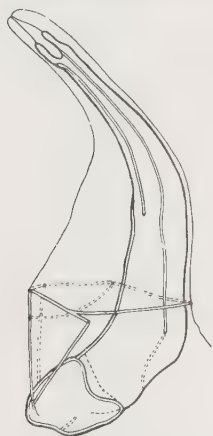


Abb. 9. Spikulum (Seitenansicht).
Vergr. 1620 $\times$.



Abb. 10. Gubernakulum (Seitenansicht).
d distal; p proximal. Vergr. 1400 $\times$.

ganges von *P. redivivoides* ist aus der Artbeschreibung und Übersichtszeichnung von GOODEY leider nicht genau festzustellen. Bei unserer Art ist jedenfalls nicht der kaudale, sondern der kephale Vulvateil stark kutikularisiert und auffallend gerundet (Abb. 8).

Diese mehrfachen und wichtigen Unterschiede der 2 Panagrelliden rechtfertigen, daß wir *P. zymosiphilus* als eine selbständige, gute neue Art betrachten.

V. Morphologie.

1. Technik.

Die meisten Beobachtungen fanden am lebenden Tier, das zwischen Objektträger und Deckglas eingeklemmt wurde, statt. Gelegentlich wurden die zu untersuchenden Nematoden in Hitzestarre versetzt. Betäubungsmittel, wie Chloreton, Methylalkohol und Nikotinsulfat erwiesen sich als ungeeignet.

Mit Bouin fixierte und mit Hämatoxylin Delafield gefärbte Tiere ergeben brauchbare Totalpräparate, obschon die einzelnen Nematoden den Farbstoff sehr verschieden stark aufnehmen. Farbtonungen vom leichtesten bis dunkelsten Violett treten auf. Das unterschiedliche Verhalten wird mit dem jeweiligen Zustand der Kutikula zusammenhängen. Die Ausführungsgänge der Schwanzpapillen beim

Männchen und die Anastomose der Seitengefäße konnten nur auf derartigen Hämatoxylinpräparaten nachgewiesen werden.

Die Herstellung von guten Schnittpräparaten bot wegen der Kleinheit und Beschaffenheit des Objektes ziemlich große Schwierigkeiten. Als Fixationsmittel wurde Sublimat-Eisessig oder Bouin gewählt. In Bouin tritt die geringste Schrumpfung auf, doch bleiben die Tiere nicht vollständig gestreckt wie im Sublimat. Um keine Tiere zu verlieren und um den Arbeitsgang zu beschleunigen, wurden die fixierten Nematoden in Agar- oder Celloidinblöcke eingeschlossen und über Alkohol und Methylbenzoat in Paraffin überführt. Da aber weder Agar noch Celloidin durch die Kutikula einzudringen vermögen, bröckeln beim Schneiden leicht einzelne Objekte heraus. Es wurden daher in späteren Präparationen zahlreiche Nematoden in Glasröhrchen, die auf einer Seite mit Müllergaze verschlossen waren, durch die verschiedenen Flüssigkeiten transportiert und erst im Paraffin mit einer heißen Nadel gerichtet. Die 2—3 μ dicken Schnitte wurden mit Hämalaun und Eosin gefärbt.

2. Äußere Gestalt und Körperbedeckung.

Die Kutikula besitzt weder Borsten, Wimpern noch irgendwelche andere Anhänge. Sie weist jedoch feine Ringel auf, deren Abstand annähernd 0,8 μ beträgt. Am Kopfende von *P. zymosiphilus* verläuft dorsal und ventral je eine Längsrinne. Diese Rinnen beginnen kurz nach dem Kopfende und endigen auf der Höhe der Oesophaguseinschnürung. Die ventrale Rinne ist etwas länger als die dorsale.

Der Haut scheint nur eine geringe Permeabilität zuzukommen. Bei Vitalfärbungen mit Neutralrot, Methylenblau und Toluidinblau (S. 384) traten immer zuerst Färbungen des Mitteldarmes auf. Es ist daher anzunehmen, daß die Farbe mit dem Wasser, das den Mund passiert, eingedrungen ist und nicht durch das Integument. Ähnliche Beobachtungen machte MICOLETZKY (1925) an anderen Nematodenarten.

3. Verdauungstraktus.

a) Vorderdarm.

Am lebenden Tier erscheint die Mundhöhle als ein kurzes Rohr, das trichterartig in das Lumen des Oesophagus übergeht (Abb. 5). Im Querschnitt erweist sich der vordere Teil als Kreis mit drei kleinen Ausbuchtungen; im hinteren Teil nähert sich die Form eher einem Dreieck. Die kutikuläre Auskleidung des trichterförmigen Teiles ist gerillt. Die Mundhöhle ist mit einem kleinen dorsalen Zahn und zwei (?) ventralen, kutikulären Verdickungen versehen (Abb. 5, Z).

Das Lumen des Oesophagus-Korpus kann im vorderen Teil bis auf drei endständige Partien, im hintersten Teil sogar vollständig geschlossen werden (Abb. 5). Am lebenden Tier gleicht dieser Binnenraum einem gleichförmigen, dünnen Kanal, der durch verschlungenen Nahrungspartikel, z. B. Hefezellen, ziemlich stark erweitert werden kann. Der vorderste Oesophagusabschnitt enthält drei 15—18 μ lange kutikuläre „Stäbe“ (Abb. 5, SS). Auf einigen Totalpräparaten besteht

zwischen diesen Stäben und der Mundhöhle anscheinend eine Verbindung. Möglicherweise sind die Stäbe als Ausführungsgänge der Schlunddrüsen zu betrachten.

b) Mitteldarm.

Der dunkle, meist undurchsichtige Mitteldarm ist leicht bräunlich getönt. Die Intensität der Farbe hängt vom Zuchtmedium ab und wird durch zahlreiche, verschieden große Granulationen bedingt, die sich in den Darmzellen befinden. Nach Feulgenfärbungen konnten in Totalpräparaten bis 80 Mitteldarmkerne gezählt werden. Bei Färbungen mit Neutralrot (1:20000) werden zuerst die Granulationen des kephalen Mitteldarmes blaurot gefärbt, darauf folgt die diffuse Anfärbung des übrigen Zellinhaltes. Einige Stunden später vollzieht sich derselbe Vorgang im kaudalen Teil. Erst zuletzt läßt sich in der Mittelpartie eine leichte, rötliche Tönung feststellen. Der Übergang der 3 Zonen ist gleitend. Bei einigen Weibchen trat im Gebiete des kaudalen Mitteldarmes an Stelle des üblichen Blaurotes ein leuchtendes Karminrot auf. Ob diese Färbung tatsächlich den Mitteldarm oder einen besonderen Zellverband betrifft, konnte nicht festgestellt werden. Ähnliche Beobachtungen wurden bei Verwendung von Toluidinblau (1:10000) gemacht. Auch hier vollzieht sich die erste Farbstoffaufnahme in den Granulationen des vorderen Mitteldarmes. Die kephalen Zellen werden blau, die kaudalen Zellen weisen einen grünlichen Farbton auf. Die Mittelpartie ist am schwächsten getönt. Der in der Körperhöhle gespeicherte Farbstoff hingegen ist leuchtend violett. Diese unterschiedliche Aufnahme des Farbstoffes im Mitteldarm und die metachromatische Färbung stehen möglicherweise mit der Sekretion und Resorption in Verbindung.

Beim Weibchen, bei dem die anatomischen Verhältnisse der Rektalgegend bedeutend übersichtlicher sind als beim Männchen, können an der Grenze zwischen Mittel- und Enddarm drei rundliche, mit je einem Kern versehene, radiär angeordnete Zellen nachgewiesen werden (Abb. 7, *RD*). Es sind dies die Rektaldrüsen. Zwei weitere Strukturen, anscheinend einzellige Drüsen, die in den After einmünden, dürften Analdrüsen entsprechen (Abb. 7, *AD*).

4. Geschlechtsorgane.

a) Weibliche Geschlechtsorgane.

Das kephal ziehende, funktionstüchtige Genitalrohr (Abb. 3) ist meist deutlich in Ovar, Ovidukt und Uterus gesondert. Im Eileiter werden häufig zahlreiche, auf mehrere Seiten abgeplattete Spermien (Abb. 3) gespeichert. Die ganze Entwicklungsreihe, von der unbefruchteten Eizelle bis zur schlüpfreifen Larve, ist oft an einem einzigen Weibchen zu

beobachten. Bei älteren Tieren kann der Uterus so stark erweitert sein, daß 2—3 Embryonen in annähernd demselben Entwicklungsstadium nebeneinander Platz finden. So konnten bis zu 40 Embryonen und Larven je Weibchen gezählt werden. Uterusquerschnitte lassen an zwei gegenüberliegenden Stellen, dorsal und ventral, zwei annähernd gleichartige, nicht deutbare Strukturen erkennen. Diese starken Wandverdickungen (längs verlaufende, hohle Leisten?) färben sich mit Hämatoxylin besonders stark an. Der kaudal liegende, zu einem sackartigen Gebilde reduzierte Gonadenast dient als Receptaculum seminis und je nach dem Zuchtmedium sind darin auch verschiedenartige, kristalline Einschlüsse zu finden (Abb. 8).

b) Männliche Geschlechtsorgane.

Am männlichen, nur einfach vorhandenen Geschlechtsrohr können bei unserer Art die einzelnen Abschnitte nicht deutlich auseinander gehalten werden. Die im Endabschnitt des Genitalrohres sich befindenden kugeligen Spermatiden sind von gleichmäßig verteilten, feinen Granulationen erfüllt. Bei Spermien, die im Ovidukt gefunden werden, sind diese feinen Granula nur noch an der Peripherie sichtbar, während sich in der Mitte große, bläschenartige Gebilde entwickelt haben (Abb. 3).

Jedes Spikulum (Abb. 6 und 9) steckt in einer feinen, durchsichtigen, gegen Druck sehr widerstandsfähigen Tasche. An isolierten Stücken ist ein an den Kreuzungspunkten verstärktes Gerüstsystem festzustellen. Kaudal der Spikula liegt das meist schwach S-förmig gebogene Gubernakulum (Abb. 6 und 10).

5. Drüsen.

Außer den schon erwähnten Schlund- (S. 384), Rektal- (S. 384) und Analdrüsen (S. 384), sind am lebenden Tiere der männlichen und weiblichen Geschlechtsöffnung benachbart, weitere drüsenartige Strukturen festzustellen (Abb. 6, *D* und 8, *VaD*). Sie dürften den Vaginaldrüsen bei Weibchen und Kittdrüsen bei Männchen (SCHUURMANS-STEKHOVEN 1939) entsprechen. Wahrscheinlich wird durch diese birnenförmigen Drüsen das klebrige Substrat ausgeschieden, das die kopulierenden Tiere miteinander verbindet, und das auch noch nach der Trennung als weißliche, voluminöse Masse an der Geschlechtsöffnung haftet.

Das Exkretionsgefäßsystem ist von H-förmiger Gestalt. In den beiden Lateralwülsten verläuft je ein gerades, seltener geschlängeltes Gefäß (Abb. 7, *SG*), das sich vom Schwanz bis in die Nähe der Mundhöhle verfolgen läßt. In Hämatoxylin-Totalpräparaten wird in der Gegend des Oesophagus-Isthmus auch die Querverbindung der beiden Gefäße sichtbar. Am lebenden Tier ist, außer den seitlichen Gefäßen

meist der kutikularisierte, an einer Stelle schleifenartig gewundene Ausführungsgang festzustellen. In einzelnen Fällen kann dieser Kanal bis zum Exkretionsporus (Abb. 5, *EP*), der am kaudalen Ende des oesophagalen Korpus liegt, verfolgt werden. An der Ventralseite des Bulbus, auf gleicher Höhe wie die vielfachen Schlingen des Ausführungsganges,



Abb. 11. Drüsenartige
„Organe“.
Vergr. 410 $\times$.

ist ein sackartiges Gebilde zu erkennen, während dorsal eine etwas kleinere, aber ähnliche Struktur festzustellen ist. Wahrscheinlich haben wir hier die Ventraldrüse vor uns. Die Verbindungen zwischen Seitengefäß, Drüse und Porus konnten nicht genau ermittelt werden.

Eine weitere drüsenartige Struktur, deren Funktion unbekannt ist, soll hier noch erwähnt werden. In Orcein-Queuetschpräparaten fielen erstmals durch den Farbstoff stark gerötete, schlauchartige Körper auf. Später konnten sie auch am lebenden Tier beobachtet werden. Meistens sind die Schläuche zu zweit vorhanden und ziehen sich von der Kopfgegend bis zum vorderen Abschnitt des Mitteldarmes (Abb. 11). Ihre Länge erreicht 100–200 μ ausnahmsweise bis 500 μ , die Breite beträgt 6–8 μ bzw. 12–14 μ . Vereinzelte Tiere besitzen in der Nähe der Mundhöhle sogar 4–6 solcher Schläuche, die dann allerdings nur 20–25 μ lang und 3–4 μ breit werden. Die Schläuche sind in der Leibeshöhle anscheinend frei verschiebbar; Fixpunkte konnten nicht festgestellt werden. Die leicht keulenförmig verdickten Enden sind in seltenen Fällen zweigeteilt. Der Inhalt scheint aus einer sehr feinkörnigen Masse zu bestehen.

6. Morphologische Abweichungen vom Normaltypus.

In älteren Massenzuchten von *P. zymosiphilus* fielen einige Tiere durch ihren schlanken, perlmutterartig glänzenden Körper auf. Die mikroskopische Untersuchung zeigte etwas kaudal der Kopfparsie eine schwache, aber deutliche Ausbuchtung (Abb. 12). Diese „Kropfbildung“, die nach einer Mitteilung von Herrn Prof. STAMMER auf einer Anschwellung der Amphidien beruht, ist das einzige zuverlässige Merkmal, das diese Tiere vom Normaltypus unterscheidet. Die „Kropf“-Häufigkeit ist in älteren Zuchtchalen, bei schlechten Futterbedingungen, besonders groß (bis gegen 20%).

Es wurde versucht, durch verschiedene Kreuzungen die Kropfbildung genetisch zu analysieren. Mit Ausnahme vereinzelter zweifelhafter Fälle konnten keine Nachkommen mit Kropf beobachtet werden. Die Kropfbildung scheint demnach nicht auf einem einfach mendelnden Faktor zu beruhen. Falls die Mißbildung über-

haupt genetisch bedingt ist, müssen kompliziertere Verhältnisse vorliegen. Möglicherweise spielen Umweltbedingungen (Futter, Temperatur u. a.) eine auslösende Rolle. Durch sie käme das verantwortliche Gen (oder die Gengruppe) erst zur Wirksamkeit. Auf diese Weise ließen sich die erhaltenen Versuchsergebnisse, sowie auch die verminderte Vitalität der Kropftiere erklären.

Ähnliche, wenn auch etwas weniger eingehende Versuche wurden mit „Warzentieren“ unternommen. Gelegentlich traten Männchen oder Weibchen auf, deren ganzer Körper, besonders aber das Hinterende, mit warzenartigen Mißbildungen der Kutikula bedeckt war. Auch bei diesen Kreuzungen konnte in der Nachkommenschaft nie dieselbe Abnormität festgestellt werden.

Kropf- und Warzentiere besitzen normale Fertilität, die Vitalität hingegen ist vermindert.

VI. Biologie.

1. Kulturmethoden.

Bei den Zuchtversuchen mit *P. zymosiphilus* ergab sich als Regel, daß die festen Nährböden besonders für Massenkulturen, die flüssigen Medien jedoch eher für Einzel- und Paarzuchten geeignet sind (S. 388). Massenkulturen in Flüssigkeiten ergeben bei längerer Versuchsdauer ungleichmäßige Resultate. Wahrscheinlich spielen dabei Sauerstoffmangel und andere Erschwerungen des Gasaustausches eine Rolle. Für Beobachtungen an Einzeltieren oder Pärchen hingegen wurden die besten Ergebnisse mit Zuchten im hängenden Tropfen erzielt. Ein Deckglas mit einem Ring aus Paraffin und Wollfett dient zur Aufnahme der Flüssigkeit. Die Deckgläser werden mit Vaseline auf Glasringe geklebt, die ihrerseits auf Objektträgern befestigt sind. Auf diese Weise ist ein direktes Beobachten unter dem Mikroskop möglich. Die ganze Anordnung wird in einer feuchten Kammer aufbewahrt. Die Aufzucht im hängenden Tropfen verhindert, daß sich Nematoden von der Futterquelle entfernen können und sich damit der Gefahr des Austrocknens aussetzen. Für Versuchstiere, die nur mit schwachen Linsensystemen beobachtet werden, eignen sich Glasblöcke, die mit einem Deckel gegen das Verdunsten der Flüssigkeit geschützt werden oder kleine Petrischalen von 4–5 cm Durchmesser. NIGON (1949) züchtete verschiedene *Rhabditis*-arten auf Objektträgern, auf denen sich mit Agar gefestigte Futtertropfen befinden. Diese einfache Methode eignet sich leider für unsere Art weniger. Trotz häufigem Futterwechsel ist der Verlust an Tieren, die sich vom Agar entfernen und auf dem Glase eintrocknen, zu groß.

Feste Nährböden müssen im allgemeinen etwas weniger häufig erneuert werden als flüssige, doch hängt dies sehr von der Temperatur, der Zusammensetzung des Nährbodens und der Populationsdichte ab.

2. Nährböden.

Die hier besprochenen Nematoden wurden erstmals in *Drosophila*-Kulturen auf Standardfutter aufgefunden. Dieser Nährboden, bestehend aus Mais, Zucker, Trockenhefe, Agar und etwas aufgetropfter Bäckerhefeaufschwemmung (Zusammensetzung S. 401) eignet sich vorzüglich für Massenkulturen. Ohne besondere Pflege können solche Zuchtschalen bei 18° 3–4 Wochen, eventuell noch länger, gehalten werden. Der einzige Nachteil besteht darin, daß Tiere, die auf Mais aufwachsen, wenig durchsichtig sind. Das Erkennen von morphologischen Einzelheiten und Beobachtungen über Lebensweise und Fortpflanzung sind erschwert.

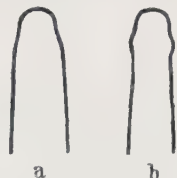


Abb. 12 a u. b. Kopf-
form von *P. zymosi-*
philus. a Normal;
b „Kropftier“.

Es wurden deshalb verschiedene andere, flüssige und feste Nährböden auf ihre Verwendbarkeit geprüft.

a) Flüssige Nährböden.

Zuckerwasser. Die ersten Versuche wurden mit Lösungen von 2—5% Handelszucker in Brunnenwasser gemacht. Schlüpfbereite Larven wurden noch abgelegt, doch unterblieb eine sichtbare Weiterentwicklung der noch im Weibchen sich befindenden Embryonen. Zur Bildung einer zweiten Generation (G_2) kam es nie, und spätestens nach 10 Tagen waren sämtliche Tiere tot.

Zucker-Hefe-Wasser (ZH). In den nächsten Versuchen wurde eine Lösung bzw. Aufschwemmung von Zucker und Bäckerhefe in Brunnenwasser erprobt. Als günstigste Zusammensetzung erwies sich eine Konzentration von 4,5—5% Handelszucker mit 0,02—0,05% Hefe. Bei größeren Hefegaben wirken anscheinend die Stoffwechselprodukte des Pilzes auf die Nematoden schädigend. Trotz häufiger Erneuerung der Flüssigkeit können solche Kulturen plötzlich bis auf das letzte Tier zugrunde gehen. Tiere, die in ZH aufwachsen, werden sehr groß und bleiben durchsichtig. Fast alle Einzelzuchten wurden deshalb in ZH, im hängenden Tropfen, durchgeführt. Dieses Medium eignet sich aber auch für Massenzuchten, die sich nur über 2—3 Wochen erstrecken sollen.

Bouillon. Bouillon wurde in verschiedenen Verdünnungen angewandt. Die Nematoden gediehen sehr gut, doch war die Gefahr des Überhandnehmens von Bakterien, wilden Hefen und Schimmel derart groß, daß auf die weitere Verwendung verzichtet wurde.

Zucker-Torutilin-Pepton-Wasser. Sehr günstig erwies sich destilliertes Wasser mit 5% Handelszucker, 0,02% Torutilin¹ und 0,2% Pepton. Die Resultate sind mit denjenigen in ZH zu vergleichen. Im Zucker-Torutilin-Pepton-Wasser ist jedoch die Gefahr einer übermäßigen Vermehrung der Bakterien ziemlich groß. Aus diesem Grunde wurde ZH vorgezogen.

b) Feste Nährböden.

Um Massenzuchten mit möglichst durchsichtigen Tieren zur Verfügung zu haben, wurden mehr oder weniger klare Flüssigkeiten von verschiedener Zusammensetzung mit 1,5—2,5% Agar gestiftet.

Zucker-Torutilin-Trockenhefe-Agar. Für die Zucht von *P. zymosiphilus* ist dieser Boden, bestehend aus destilliertem Wasser mit Agar, 6% Zucker, 0,02% Torutilin und 0,5% Trockenhefe, gut geeignet. Während 2 Monaten (mit Übertragungen) wurden darauf Massen und Einzelzuchten gehalten, ohne feststellbare Einbuße an Fertilität oder Vitalität gegenüber der Stammkultur auf Mais. Die Größe der Tiere jedoch ging leicht zurück. Durch Beifügen einer Aufschwemmung von Bäckerhefe auf die fertigen Böden konnten wieder normale Größen erzielt werden. Da bei den erwähnten Böden die Gefahr einer Verunreinigung durch Schimmel und Bakterien ziemlich groß ist, wurden solche Agarplatten nur zeitweise verwendet, die Stammkulturen jedoch auf Mais weitergezüchtet.

Lezithin-Pepton-Mineralsalz-Agar (NIGON 1949). Ein von ZIMMERMANN (1921) angegebener Nährboden wurde von NIGON modifiziert und mit einem Bäckerhefe-aufguß für verschiedene *Rhabditis*-Arten erfolgreich angewendet (S. 387). Für unsere Art eignet sich dieses Substrat weniger gut als der oben beschriebene Torutilin-Agar-Nährboden. Vermehrung und Wachstum scheinen geringer zu sein.

Weitere geprüfte Nährböden sind S. 401 beschrieben.

¹ Das Hefepreparat Torutilin, das aus dem Laboratorium des Herrn Prof. Dr. W. GOETSCH stammt, wurde freundlicherweise von Herrn Dr. E. KUPKA, Graz, zur Verfügung gestellt.

Da sich Mais, trotz dem erwähnten Nachteil, als der günstigste Boden für Massenkulturen erwies, wurde auf Mais ein Nematodenstamm aus einem einzigen befruchteten Weibchen gezüchtet. Für alle anschließend beschriebenen Versuche wurden Tiere verwendet, die aus diesem Stamm hervorgegangen sind.

3. Lebenszyklus von *P. zymosiphilus*.

Genaue Beobachtungen am Essigälchen liegen von SITSAN PAI (1928) vor. Bei der Beschreibung von *P. zymosiphilus* wurde dieselbe Einteilung des Lebenszyklus vorgenommen. Unsere Angaben gelten für die Aufzucht in ZH bei Zimmertemperatur.

a) *Progressive Phase*.

Sie beginnt mit der Befruchtung der Eizelle und dauert bis zur Vollreife. Dieser Zeitpunkt der maximalen Fortpflanzungstätigkeit tritt erst 1—2 Tage nach dem Erreichen der Reife ein (S. 395). Vollreife und Abschluß des Wachstums fallen annähernd zusammen. *P. zymosiphilus* ist vivipar. Ovo- oder Ovoviviparität konnte nie beobachtet werden. Nach knapp 1,5 Tagen intrauteriner Entwicklung wird die Hülle gesprengt und die Larve durch die Vulva ausgestoßen. Das Neugeborene ist 170—200 μ lang. Seine Gestalt wirkt etwas gedrungener und plumper als die der Adulten. Der ganze Verdauungstrakt erscheint vollständig ausgebildet. Gonade und sekundäre Geschlechtsmerkmale sind jedoch noch nicht zu erkennen. Im Verlaufe des ersten Tages wird in der mittleren Körperpartie eine Anhäufung weniger Zellen sichtbar. Sie sind das Bildungsmaterial für die Gonade, die am zweiten Tage schon eine beträchtliche Größe erreicht. Zu Beginn des 3. Tages ist das vorher gerade Geschlechtsrohr umgebogen, ähnlich wie beim reifen Tier. Beim Männchen ist in der Kloakengegend ein sackartiges Gebilde zu erkennen. Die paarigen Spikula und das akzessorische Stück sind häufig noch nicht festzustellen. Die jetzt sichtbare Vulva des Weibchens ist meist noch geschlossen. Ende des 3., anfangs des 4. Tages werden die Tiere geschlechtsreif. Die Gonaden sind voll entwickelt, die Spikula gebildet und die Vulva geöffnet. Das Wachstum jedoch ist noch nicht abgeschlossen. Es dauert 1—2 Tage über die Erreichung der Reife hinaus.

b) *Stationäre Phase*.

Sie beginnt mit dem Eintritt der Vollreife und dauert bis zum Beginn des Seniums. Bei unserer Form umfaßt sie 6—8 Tage. Während dieser Zeit sind die Männchen sehr kopulationsfreudig und die Weibchen entfalten eine rege Legetätigkeit. Wird durch äußere Umstände die Kopulation verhindert, so kann die stationäre Phase bedeutend länger dauern (S. 395).

c) Regressive Phase.

Dieser dritte Lebensabschnitt, der meist 3—5 Tage dauert, umschließt die Zeit des beginnenden Seniums bis zum physiologischen Tode. Die Fortpflanzung wird eingestellt, die Gonaden werden rückgebildet und sind häufig von vakuolisierter Beschaffenheit. Die wabige Plasmastruktur der Mitteldarmzellen schwindet. Die vorher glatte, pralle Körperoberfläche schrumpft und erhält Einschnürungen. Wahrscheinlich beruht dies auf einer Degeneration der Kutikula und einer Verminderung des Muskeltonus. Die Bewegungen der Tiere verlangsamen sich mehr und mehr. Einige Stunden vor dem Tode liegen die Nematoden fast unbeweglich auf dem Grunde der Schale. Höchstens das Kopf- oder Schwanzende zuckt von Zeit zu Zeit, oder der Körper vom sterbenden Weibchen wird durch das lebhafte Gezappel eingeschlossener, schlüpfreifer Larven aus der Ruhelage gebracht. Solche Junge, die aus unbekannten Gründen vom Weibchen nicht aus der Vulva ausgestoßen worden waren, zerstören und verzehren mit der Zeit alle Eingeweide der Mutter, so daß nur noch die einschließende Kutikula übrigbleibt. Nach Eintritt des Todes streckt sich der Körper. Ein deutlich sichtbarer Verfall, wie z. B. Verschwinden von Plasmastrukturen und Kernen, setzt sofort ein. Bei 25° und bei Anwesenheit von Bakterien wird der Körper meist innerhalb weniger Stunden „aufgelöst“.

Bei Zimmertemperatur verstreichen also bei unserer Art vom Schlüpfakt bis zum physiologischen Tode meist 12—16,5 Tage. Häufig erreichen die Männchen ein höheres Alter als die Weibchen. Nähere Angaben darüber finden sich im nächsten Abschnitt.

4. Einfluß der Temperatur auf das Lebensalter.

Um dem Einfluß der Temperatur auf das durchschnittliche und maximale Alter von *P. zymosiphilus* festzustellen, wurden Männchen und Weibchen, einzeln oder paarweise, in ZH bei Zimmertemperatur (18—20°) und bei 25° aufgezogen. Tiere, die während der zwei ersten Lebenstage, also vor dem Erreichen der Reife, starben, blieben unberücksichtigt. Die Zahl der Versuchstiere bei Zimmertemperatur betrug 50 ♂ und 58 ♀, bei 25° 32 ♂ und 29 ♀. Die Resultate sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

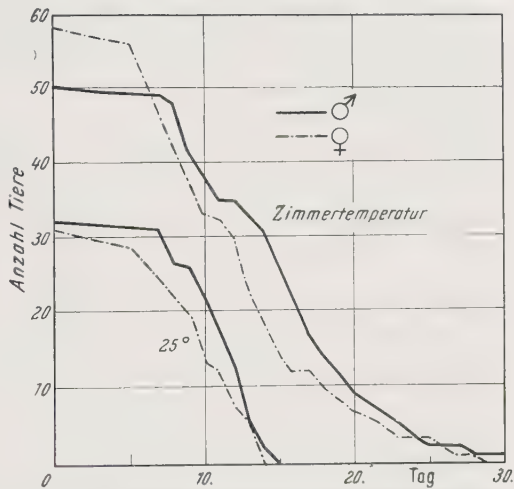
Das minimale Alter ist für die Männchen wie auch für die Weibchen bei beiden Temperaturen gleich hoch. Das maximale Alter hingegen erfährt bei 25° eine beträchtliche Erniedrigung, verglichen mit Tieren, die bei Zimmertemperatur aufgezogen werden. Die Abnahme beträgt bei beiden Geschlechtern annähernd gleich viele Tage (15 für ♂, 16 für ♀). Das durchschnittliche Alter wird aber nur um 4 (♂) bzw. 3 (♀) Tage herabgesetzt. Durch die Erhöhung der Temperatur wird somit das

Tabelle 2. *Minimales, maximales und durchschnittliches Alter von P. zymosiphilus in ZH bei verschiedenen Temperaturen.*

	Zimmertemperatur		25°	
	♂	♀	♂	♀
Minimales Alter	7 Tage	5 Tage	7 Tage	5 Tage
Maximales Alter	31 „	29 „	15 „	14 „
Durchschnittliches Alter . .	15,8 „	12,9 „	11,5 „	10 „

maximale und damit das durchschnittliche Alter von *P. zymosiphilus* verkürzt. Alle Werte für die Männchen liegen bei beiden Temperaturen durchwegs um 1—3 Tage höher als die entsprechenden der Weibchen. Die Temperaturerhöhung bewirkt auch eine beschleunigte Entwicklung. Bei 25° verstreichen vom Schlüpfakt der G_1 bis zum Schlüpfakt der G_2 nur 2—3, an Stelle von 4—5 Tagen bei 18°. Über die Höhe der tolerierten Temperatur wird in Abschnitt VI, 6 berichtet.

Für beide Temperaturen wurden in Abbildung 13, für Männchen und die Weibchen getrennt, Absterbekurven aufgetragen.

Abb. 13. Absterbekurve von *P. zymosiphilus*-Männchen und -Weibchen bei verschiedener Temperatur in ZH.

Die Absterbekurven der Männchen und Weibchen bei Zimmertemperatur weichen am Lebensanfang und gegen das Lebensende zu um einen, in der Mitte sogar um 3 Tage auseinander. Erst vom 24. Lebens-tage an berühren oder überschneiden sich die 2 Kurven. Der Verlauf der 25°-Kurve ist etwas steiler, entspricht aber sonst demjenigen bei Zimmertemperatur. Anscheinend ist die Anfälligkeit der Weibchen, verglichen mit den Männchen, in den mittleren Alterslagen besonders groß. Der Beginn der erhöhten Weibchensterblichkeit fällt annähernd mit dem Anfang der regressiven Phase (S. 390) zusammen.

5. Einfluß der Temperatur auf die Vermehrung.

Bei sieben verschiedenen Temperaturen, zwischen 1,5 und 28°, wurde *P. zymosiphilus* in ZH gezüchtet und die Vermehrung kontrolliert.

a) Zuchten im KÜHLSCHRANK bei 1,5—2,5°.

Es wurden 26 Nematoden jeglichen Alters langsam an tiefere Temperaturen gewöhnt und hierauf 10 Tage lang im KÜHLSCHRANK gehalten. Bei 1,5—2,5° wird die Fortpflanzung vollständig ausgeschaltet. Selbst schlüpfreife Junge verbleiben im Mutterleibe. Die Bewegung ist sehr eingeschränkt. Vom 2.—3. Tage an liegen die Tiere in einer Kältestarre, die vorerst noch durch sorgfältiges Anwärmen reversibel ist. Die Absterbekurve fällt langsam und gleichmäßig ab. Nach 9 Tagen sind alle Tiere zugrunde gegangen.

b) Zuchten auf sechs verschiedene Wärmestufen von 9—28°.

Auf den einzelnen Temperaturstufen wurden je 14 adulte oder kurz vor der Reife stehende Nematoden, Männchen und Weibchen annähernd zu gleichen Teilen, in ZH gehalten. Die Resultate sind in Tabelle 3 zusammengefaßt.

Tabelle 3. Vermehrung von *P. zymosiphilus* auf verschiedenen Wärmestufen (9—28°) in ZH.

Tag	1. Stufe 9—10°	2. Stufe 10—11°	3. Stufe 16,5—17,5°	4. Stufe 21—22°	5. Stufe 25—26°	6. Stufe 27—28°
	Tiere					
1.	14	14	14	14	14	14
3.	18	16	86	98	71	—
6.	21	36	163	1320	980	—
9.	18	16	146	∞	∞	—

Auf den ersten 2 Stufen (9—11°) werden einige Junge abgelegt, doch gehen die meisten davon innerhalb kurzer Zeit zugrunde. Der Bestand am 9. Tage entspricht annähernd der Ausgangszahl. Auf der 3. Wärmestufe (16,5—17,5°) findet eine schwache Vermehrung auf das 10fache statt. Auf der 4. (21—22°) und 5. Stufe (25—26°) hingegen gedeihen die Zuchten sehr gut. Im Verlaufe von 8 Tagen nimmt die Nematodenzahl um mehr als das 100fache zu. Die stärkste Vermehrung findet vom 4.—6. Tage statt. Zu diesem Zeitpunkt setzt die G₂ mit der Ablage der Larven ein. Die 5. Stufe (25—26°) liegt jedoch nahe der oberen kritischen Temperatur. Die letzte Stufe (27—28°) wirkt bereits tödlich. Das Temperaturoptimum für *P. zymosiphilus* in ZH muß also zwischen 21 und 26° liegen.

6. Einfluß des Kulturmediums auf die Empfindlichkeit gegenüber Extremtemperaturen und Ausweitung des tolerierten Temperaturbereiches.

Drei Jahre nach dem eben beschriebenen Versuch wurde erneut eine ähnliche Kontrolle ausgeführt. Diesmal jedoch wurde an Stelle von ZH

ein Maisnährboden verwendet. Überraschenderweise zeigte sich, daß jetzt Temperaturen bis zu 32° sehr gut ertragen werden und noch Vermehrung stattfindet. Als den Nematoden ein Nährboden im Bereiche von 31—32° angeboten wurde, setzte eine deutliche Abwanderung auf die kältere Seite ein. Ebenso wurde Mais von 30° einem gleich zusammengesetzten Nährboden von 31° vorgezogen. Die höchste gemessene Temperatur, bei der noch geringe Vermehrung stattfindet, beträgt 33°. Das Wärmepessimum von *P. zymosiphilus* auf Mais liegt bei 33,5°. Sobald sich die Temperatur der 30°-Grenze nähert, setzt eine deutliche Verlangsamung der Bewegungen ein. Eine ähnliche Erscheinung ist bei Abkühlung unter 14—15° zu beobachten. Auf Maisböden konnte auch eine gegenüber ZH tiefer liegende, untere kritische Temperatur für die Vermehrung festgestellt werden. Bei 6° werden immer noch zahlreiche Junge geworfen, die allerdings nur zum Teil die Reife erreichen. Immerhin hatten sich nach 8 Tagen die 70—80 überimpften Nematoden auf eine nicht mehr zählbare Anzahl vermehrt. Bei dieser tiefen Temperatur wird die Kriechgeschwindigkeit sehr stark verlangsamt. Einige Tiere fallen in eine reversible Kältestarre. Während 2—4 Tagen werden sogar Temperaturen von 0,5—1° ertragen. Bei länger dauernder Einwirkung hingegen wird die Starre irreversibel und nach wenigen Tagen geht die Kultur ein.

Bei den auf Mais angesetzten Versuchen wurde also eine Ausweitung des tolerierten Temperaturbereiches um einige Grade beobachtet. Um den Einfluß des Kulturmediums auszuschalten, wurden nochmals je 14 Nematoden in ZH bei verschiedener Temperatur gehalten. Die Zucht bei 33° war am 4. Tage, diejenige bei 31° am 9. Tage ausgestorben. Hingegen vermehrte sich *P. zymosiphilus* bei 29° gut. Bei 27—28° jedoch konnten noch mehr Nachkommen ausgezählt werden. Im Verlaufe von 3 Jahren hatte sich demnach die Temperaturgrenze, bei der Fortpflanzung und Vermehrung in ZH noch möglich sind, um 3°, von 26 auf 29°, verschoben (auf Mais liegt die entsprechende Temperatur um weitere 4° höher, bei 33°). Die Reaktion gegenüber tieferen Temperaturen blieb jedoch unverändert. Die Verlagerung der oberen, kritischen Temperatur für Vermehrung wird wahrscheinlich auf einer, durch Selektion hervorgerufenen Veränderung der genetischen Konstitution von *P. zymosiphilus* beruhen.

7. Einfluß der Hefe auf die Vermehrung und das Wachstum.

Bei der Prüfung verschiedener Nährböden auf ihre Verwendbarkeit für *P. zymosiphilus* erwies sich ZH als sehr günstiges Medium. Die Frage, ob sich die Hefe in roher oder gekochter Form besser eigne, wurde auf folgende Weise geprüft: Je 15 adulte oder kurz vor der Reife stehende Nematoden wurden bei Zimmertemperatur in 4 verschiedenen Medien

kultiviert. Als Zuchtflüssigkeit verwendete ich 2% und 5% Handelszucker-Lösungen mit roher oder gekochter Hefe (20 min in Brunnenwasser). Jeden zweiten Tag wurden die Nachkommen ausgezählt (Abb. 14).

In den Kulturen mit roher Hefe (1 und 2) findet eine bedeutend stärkere Vermehrung statt als in den entsprechenden Kulturen mit gekochter Hefe (3 und 4). Der Unterschied wird aber erst am 6.—7. Tage

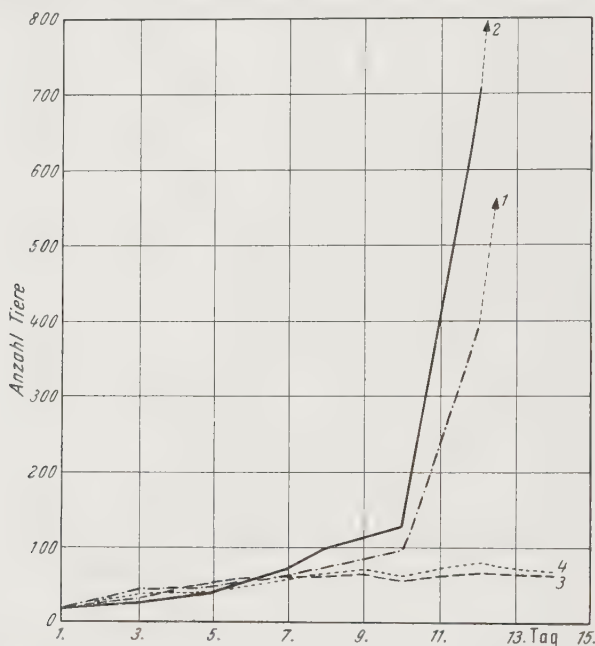


Abb. 14. Einfluß von roher und gekochter Bäckerhefe und verschiedenen Zuckerkonzentrationen auf die Vermehrung von *P. zymosiphilus* bei Zimmertemperatur (Durchschnitt aus zwei Parallelversuchen). 1 2% Zucker, 0,2% rohe Hefe; 2 5% Zucker, 0,02% rohe Hefe; 3 2% Zucker, 0,02% gekochte Hefe; 4 5% Zucker, 0,02% gekochte Hefe.

ersichtlich. Zu diesem Zeitpunkt setzt die Fortpflanzungsperiode der G_1 ein. Die mit frischer Hefe gefütterten G_1 -Tiere entfalten also eine stark vermehrte Legetätigkeit. Überdies werden die Nachkommen aus den Zuchten 1 und 2 um rund $\frac{1}{3}$ länger als gleichaltrige Tiere aus den Zuchten 3 und 4 (S. 401). Als Ursache für das verminderte Wachstum und die geringen Nachkommenzahlen in den Experimenten 3 und 4 kann Futtermangel nicht in Frage kommen. Versuche mit erhöhten Konzentrationen an gekochter Hefe ergaben die gleichen Resultate. Außerdem wurde während der ganzen Versuchsdauer täglich die Nährflüssigkeit erneuert. Es müssen vielmehr durch das Kochen der Hefe Stoffe zerstört worden sein, die in der Physiologie der Fortpflanzung und des

Wachstums von Wichtigkeit sind. Der Zuckergehalt hingegen spielt eine kleinere Rolle. Immerhin weisen alle Zuchten mit dem höheren Zuckergehalt gegenüber den der entsprechenden Kultur mit niedrigerer Konzentration eine mehr oder weniger stark vermehrte Nematoden-zahl auf.

8. Vermehrungsrate.

In Glasblöcken wurden je 2—3 ♀ und 2—5 ♂, im ganzen 29 ♀ und 32 ♂, aufgezogen. Täglich wurde die Nährflüssigkeit gewechselt, die geworfenen Larven aus-gezählt und entfernt. Zuchtmedium: ZH, Temperatur: 25° (Tabelle 4).

Tabelle 4. Durchschnittliche Zahl der je Weibchen ($n = 29$) und je Tag geworfenen Jungen von *P. zymosiphilus* bei 25° in ZH.

Alter der Eltern	Durchschnittliche Zahl der geschlüpften Jungen
4. Lebenstag	2,9
5. Lebenstag	41,6
6. Lebenstag	37,2
7. Lebenstag	25,6
8. Lebenstag	24,3
9. Lebenstag	6,0
10. Lebenstag	2,3
11. Lebenstag	1,2
Durchschnittliche Zahl der je ♀ geworfenen Jungen	141,1
Minimale Zahl (Durchschnitt einer Schale) je ♀	67,8
Maximale Zahl (Durchschnitt einer Schale) je ♀	223,1

Vom 4.—11. Lebenstag der Eltern werden Junge geworfen. Die höchste Anzahl der je Weibchen und je Tag abgelegten Larven fällt in den Anfang der Fortpflanzungsperiode. Dann sinkt die Kurve rasch und läuft langsam und gleichmäßig aus. Die Fortpflanzungsperiode umfaßt 8 Tage. Findet die Kopulation aus irgendwelchen äußeren

Gründen verspätet statt, kann das Ende der zweiten, also der „stationären Lebensphase“ (S. 389) hinausgeschoben werden. So konnten 3 Wochen alte, unbefruchtete Weibchen beobachtet werden, die mit gleichaltrigen Männchen kopulierten und noch Junge warfen.

9. Häutungen.

Nach MAUPAS (1899), RAUTHER (1930) u. a. häuten sich die meisten Nematoden 4mal. Dann soll die Geschlechtsreife, jedoch noch nicht die endgültige Größe, erreicht sein. Bis zu dieser letzten Häutung werden die Tiere als Larven bezeichnet. PAI (1928) fand allerdings bei *Anguillula aceti* überhaupt nie eine kutikuläre Hülle in der Kulturschale. Er schloß daraus, daß zumindest beim Essigälchen keine Häutung vorkomme und die Kutikula daher wachstumsfähig sein müsse.

Bei *P. zymosiphilus* wurden in der Zuchtflüssigkeit einige Male leere Kutikulae mit Enddarmhang festgestellt. Durch regelmäßiges

Beobachten wurde versucht, die Zahl der Häutungen für unsere Art zu bestimmen. Es stellte sich bald heraus, daß halbstündliche oder gar stündliche Kontrollen nicht genügten. Die abgestreifte Kutikula ist von solch feiner Beschaffenheit, daß sie meist nur durch darin befindliche Gasblasen erkennbar ist. Überdies geht die Haut rasch in Zersetzung über. Es galt daher, die Nematoden möglichst während des Häutungsaktes selbst zu beobachten.

P. zymosiphilus wurde einzeln in ZH bei 18—20° gehalten und alle 5—10 min mikroskopisch kontrolliert. Die erste Häutung erfolgte bei 2—3stündigen Larven. Der Schlüpfvorgang selbst konnte nicht beobachtet werden, doch wiesen die vorhandenen Hüllen mit Sicherheit darauf hin, daß die *erste Häutung* erfolgt war. Nach weiteren 12 Std, also 14—15 Std nach dem Schlüpfen, zeigten einige Nematoden eine deutliche Veränderung. Die mit der Schwanzspitze am Boden festgeklebten, langsam kreisenden Tiere begannen krampfartig zu zucken. Dann lösten sie ihr Schwanzende los und legten sich mehr oder weniger starr auf den Boden des Gefäßes. Nach kürzerer Zeit wurden die Tiere wieder lebhafter. Sie schwammen in der Flüssigkeit herum und begannen mit dem Abstreifen der Kutikula. In einigen Fällen brach sich das Tier mit dem Vorderende eine Öffnung in die abzustreifende Haut und wand sich mittels schlängelnder Bewegungen durch das entstandene Loch. Häufig wurde jedoch die Kutikula annähernd in der Körpermitte gesprengt. Dieser *zweite Häutungs Vorgang* dauerte einige Minuten bis eine Stunde. Eine *dritte Häutung* konnte 2—2½ Tage, eine *vierte Häutung* 3—3½ Tage nach dem Schlüpfen beobachtet werden. Die Männchen häuten sich meist einige Stunden später als die Weibchen. Nach der vierten und letzten beobachteten Häutung sind die Tiere geschlechtsreif.

10. Geschlechtsverhältnis.

Bei allen Auszählungen wurden nur Individuen mit erkennbarem Geschlecht, also mit Vulva oder Spikula, bzw. deren Anlage, berücksichtigt. Alle Tiere waren auf Mais-Standardfutter (S. 401) oder ZH (S. 401) gezüchtet worden.

Im Verlauf von 3 Monaten wurden an 5 beliebig gewählten Tagen 328 Tiere aus Maiskulturen ausgezählt. Davon waren 130 ♂ und 198 ♀. Das Geschlechtsverhältnis (GV), also die Anzahl der ♂ auf 100 ♀, betrug demnach 65,7. Nachdem diese Zählungen abgeschlossen waren, fand ich auf kurz vorher geimpftem Maisfutter dagegen ein Überwiegen der ♂. Damit bestätigte sich auch für *P. zymosiphilus* die von MICOLETZKY (1916 und 1925) und DOTTERWEICH (1938) beschriebenen großen Schwankungen im GV von Nematoden. Bei den Untersuchungen über Erdnematoden konnte MICOLETZKY keinen Zusammenhang mit der Jahreszeit, der Örtlichkeit oder irgendwelchen anderen Faktoren finden.

Er glaubt an keine Periodizität. DOTTERWEICH hingegen stellte für *Rhabditis teres* fest, daß ein vermehrtes Nahrungsangebot in der Regel eine Verschiebung des GV zugunsten der Weibchen nach sich zieht. Um für *Panagrellus* eventuelle Ursachen solcher Verschiebungen festzustellen, wurden verschiedene Experimente angesetzt.

Im ersten, 8 Monate dauernden Versuch wurden Futter(Mais)- und Temperatur (18°)-Bedingungen möglichst konstant gehalten und alle 14 Tage das GV bestimmt. In einem 2. Versuch wurde eine Nematodenkultur während 24 Tagen auf dem ursprünglichen, sich langsam verschlechternden Nährboden bei gleichbleibender Temperatur (18°) belassen und alle 2—3 Tage das GV ermittelt.

Im 1. Versuch schwankt das GV von 11—180, im 2. Versuch von 27—397. Die Durchschnittswerte beider Experimente (73,0 und 72,2) entsprechen sich annähernd. Ob im 1. Versuch die Zahl der Männchen jahreszeitlichen Schwankungen unterworfen ist, kann nicht mit Sicherheit angegeben werden. Ein Maximum liegt anscheinend im Spätsommer, ein Minimum an der Jahreswende. Im 2. Versuche ist vom 4.—6. Tage ein deutlicher Anstieg der Zahl der Männchen festzustellen. Nach dem 6. Tage fällt der Index und bleibt für die letzten 10 Tage der Versuchsdauer auf etwa 50 stehen, demselben Wert wie zu Beginn des Versuches. Auch dieser Kurvenverlauf kann nicht mit Sicherheit gedeutet werden (p_H des Futters, Nahrungsangebot?).

In beiden Versuchen konnte öfters beobachtet werden, daß sich an den Wänden der Zuchtschalen häufig Ansammlungen von Tieren des gleichen Geschlechtes befinden.

Um nicht nur das GV von Populationen, sondern auch von Nachkommen eines Elternpaares zu prüfen, wurde die G_1 verschiedener Pärchen ausgezählt (Tabelle 5).

Tabelle 5. Geschlechtsverhältnis der Nachkommen einiger Pärchen von *P. zymosiphilus* (ZH-Kulturen bei 25°).

	Nachkommen			Tiere unbestimm- baren Geschlechtes	GV
	♂	♀	gesamt		
1. Pärchen . .	18	22	40	3	81,8
2. Pärchen . .	31	45	76	-	68,9
3. Pärchen . .	75	106	181	9	70,8
4. Pärchen . .	15	28	43	1	53,6
Gesamt	139	201	340	13	
Mittel	34,8	50,3			69,2

Wie in den andern Versuchen erhalten wir auch hier ein durchschnittliches GV von etwa 70. Die Abweichungen vom Mittelwert sind hier

jedoch geringer. Bei der Ablage der Jungen konnte kein bestimmter Modus festgestellt werden. Männliche und weibliche Nachkommen wurden annähernd gleichmäßig auf die Fortpflanzungsperiode verteilt geworfen. Das Alter der Eltern und die Zuchttemperatur (18—25°) sind anscheinend für das GV von *P. zymosiphilus* ohne wesentliche Bedeutung.

Nach diesen Versuchen darf angenommen werden, daß das GV für *P. zymosiphilus* etwa bei 70 liegt. Der Mittelwert aus den 3 beschriebenen Versuchen mit zusammen 7658 Tieren beträgt 72,5. Eine Beeinflussung des GV durch irgendwelche Faktoren konnte nicht mit Sicherheit festgestellt werden. Möglicherweise spielen die Jahreszeit und das Alter der Zucht (veränderte Nahrungsbedingungen) eine Rolle.

Kurz vor Abschluß der Versuche über das GV bei *P. zymosiphilus* erschien eine Arbeit von NIGON (1949). Seine eingehenden Untersuchungen an der pseudogamen Art *Rhabditis belari* ergaben, daß durch das Alter der Weibchen, durch Zuchttemperaturen und chemische Faktoren das GV dieser Nematoden beeinflusst werden kann.

11. Sexuelles Verhalten.

Nach Eintreten der Geschlechtsreife, eventuell sogar schon früher, können häufig Kopulationen festgestellt werden. Die längste beobachtete Begattung dauerte 40 min. Häufig schlingen 3—4 Männchen ihr Schwanzende um ein Weibchen, verschieben suchend ihren Körper, bis ein Tier die Vulva gefunden hat. Unter krampfartigen Bewegungen werden nun die Spikula eingeführt und gleichzeitig scheidet das Männchen, eventuell auch das Weibchen (RAUTHER 1930) eine Kittsubstanz aus, die das Paar miteinander verbindet. Trotzdem trennen sich die kopulierenden Tiere leicht bei einem Transport auf den Objektträger, so daß ich den Übertritt der Spermien, der schon von SCHNEIDER (1866) für andere Nematoden beschrieben wurde, nie genau beobachten konnte. Nach MICOLETZKY (1925) soll wahrscheinlich eine einmalige Begattung zur Besamung sämtlicher Eier ausreichen.

Für viele Nematoden, insbesondere für einige der mit *Panagrellus* nahe verwandten *Rhabditis*-Arten, ist hermaphroditische oder parthenogenetische Fortpflanzung nachgewiesen (MAUPAS 1900, NIGON 1949 u.a.). *Panagrellus zymosiphilus* hingegen gehört zu den Formen mit obligat bisexueller Fortpflanzung. Weibchen, die ohne Männchen aufgezogen werden, bleiben stets ohne Nachkommen.

12. Bewegung, Lebensweise.

P. zymosiphilus hält sich in Flüssigkeiten 1—2 mm über dem Boden auf. Meist ist die Längsachse des Körpers in der Horizontalen orientiert. Im Gegensatz dazu schwimmt das Essigälchen hauptsächlich mit vertikal

gerichteter Längsachse, dicht unterhalb der Oberfläche. Nach vielen Beobachtungen scheint es wahrscheinlich, daß der Schwimmvorgang folgendermaßen verläuft: *P. zymosiphilus* liegt mit der Ventralseite nach unten im Wasser und bewegt die Körperenden rasch auf und nieder. Nach einigen Schlägen dreht sich das Tier in die Seitenlage und krümmt nun Vorder- und Hinterteil in der dorso-ventralen Richtung. In rascher Folge, bei 18° etwa 140mal/min, werden Kopf und Schwanz auf und ab, hin und her bewegt. Die erzielte Ortsveränderung ist sehr gering. Es bietet sich daher der Anblick einer stehenden Welle, eines Schwimmens an Ort.

Häufig kann beobachtet werden, wie sich *P. zymosiphilus* in einem flüssigen Medium mit seiner Schwanzspitze am Schalenboden festklebt und mit aufrecht gerichteter Längsachse schlängelnde Bewegungen ausführt. Etwas ähnliches läßt sich auch auf mageren oder verschimmelten Maiskulturen feststellen. Die Tiere, einzeln oder zu mehreren eng aneinander geschmiegt, klettern bis an die Spitzen der stark verzweigten Schimmelgebilde oder auf hervorstehende Maisbrocken. Hier fixieren sie ihren hinteren Körperteil und führen mit dem Vorderende rastlose Bewegungen aus. Dieses, von VÖLK (1950) als „Winken“ bezeichnete Verhalten ist auch verschiedenen *Rhabditis*- und *Diplogaster*-Arten eigen. OSCHKE (1952) konnte an 2 Rassen von *Rhabditis inermis*, die sich einzig durch „Winken“ oder „Nichtwinken“ voneinander unterscheiden, den monofaktoriell dominanten Erbgang dieser Eigenschaft nachweisen.

Löst sich *P. zymosiphilus* wieder von der Unterlage, so haftet meist ein kleines, weißliches Klümpchen einer zähen und klebrigen Masse an der Schwanzspitze. Die Möglichkeit, sich mit der Schwanzspitze festkleben zu können, spricht sehr für das Vorhandensein von Haft(Schwanz)-Drüsen, obwohl sie morphologisch nicht nachgewiesen werden konnten. Nach CHITWOOD und CHITWOOD (1937) sollen nur die *Aphasmidia* Schwanzdrüsen besitzen; doch wurden neuerdings auch bei einigen *Phasmidia* solche Kittdrüsen festgestellt (zit. SCHUURMANS STEKHOFEN 1939). Eine weitere Beobachtung, die auf das Vorhandensein von Haftdrüsen bei *P. zymosiphilus* hindeuten könnte, ist die Fähigkeit, nestartige Gebilde herzustellen (ähnliche Befunde an *Chromodora* wurden von MESCHKAT 1934 veröffentlicht). Besonders bei Paarzuchten in ZH zeigen sich bald nach dem Schlüpfen der ersten Jungen kleine weißliche Klümpchen im Zuchtmedium. Sie bestehen hauptsächlich aus Hefen, einzelnen Baumwollfäden und Kittstoffen unbekannter Herkunft, die von den Haftdrüsen stammen dürften. Aus diesen lockeren Gebilden ragen die Vorderkörper kleiner Larven heraus. Mit dem Schwarzenze sind sie im Ballen verankert, mit dem freien Vorderkörper führen sie Schwimmbewegungen aus. In Knäueln von der Größe eines

Stecknadelkopfes können sich 20—30 Larven befinden. Nach und nach wird der Ballen vergrößert. Adulttiere kriechen hinein und führen dieselben pendelnden Bewegungen aus. Es konnten „Nester“ bis zur ungefähren Größe einer Erbse beobachtet werden, in denen sich 200 oder mehr Nematoden jeglichen Alters befanden. Meist wird der „Bau“ dieser Gebilde von frisch geschlüpften Larven begonnen.

Nach STEINER [1919 (2)] ist die halbsessile Lebensweise, mit mehr oder weniger senkrecht gerichteter Hauptachse, ein Merkmal der primitiven Nematoden. SCHULZ (1935) hingegen vertritt die Ansicht, daß die Nematoden Stemmischlängler seien, daß also bei normaler Orientierung im Raum die Längsachse des Körpers mit der Horizontalen parallel verlaufe. Unter Stemmischlängeln versteht SCHULZ eine Bewegung, bei der der Körper auf mindestens zwei gegenüberliegenden Seiten mit festen Gegenständen Kontakt gewinnt (zit. SCHUURMANS STEKHOFEN 1939). Diese Art der Bewegung ist auch bei *P. zymosiphilus* in Agarböden zu beobachten. Eine Bevorzugung einer bestimmten Körperseite scheint nicht zu bestehen. „Tunnelbohrungen“ sind nur in magerem Futter festzustellen. Solange sich genügend Hefen auf dem Nährboden befinden, bleibt *P. zymosiphilus* an der Oberfläche. Hier werden unter günstigen Bedingungen, bei Zimmertemperatur, Geschwindigkeiten bis zu 4 cm/min gemessen (Luftlinie). Treten Hindernisse auf, so ist ebenso rasches Rückwärtskriechen möglich.

Eine eigentliche Ruhelage konnte nicht festgestellt werden. *P. zymosiphilus* ist normalerweise bis ins Senium unaufhörlich in Bewegung. Erhöhung der Temperatur wirkt beschleunigend.

13. Körpergröße und Variabilität.

a) Grundmaße.

Zur Charakterisierung von *P. zymosiphilus* wurden die Maße nach DE MAN (1910) verwendet. Sie sind in Abb. 1 veranschaulicht.

b) Entwicklung der Maße während der ersten Lebenstage.

Drei frischgeschlüpfte Larven (2 ♀ und 1 ♂) wurden in Abständen von je 24 Std bis zu ihrem 4. Lebenstage ausgemessen. Die erhaltenen Werte sind in Tabelle 6 zusammengestellt.

Nach Tabelle 6 nimmt die Länge von *P. zymosiphilus* während der ersten Lebenstage um das 5—6fache zu. Die Breite hingegen vergrößert sich knapp um das 3fache des ursprünglichen Maßes. Die Larve wird also schlanker. Am 4. Tage sind meist die endgültigen Proportionen erreicht.

Tabelle 6. Entwicklung der Maße von *P. zymosiphilus* während der ersten 4 Lebenstage in ZH bei 23—25°. (Abkürzungen s. Abb. 1.)

		<i>L</i> μ	<i>D</i> μ	<i>O</i> μ	<i>S</i> μ	<i>V</i> μ	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>v</i> %
♀	1. Tag	169	18	100	62	—	9,4	1,7	2,7	
	2. Tag	332	18	104	64	—	18,4	3,2	5,2	
	3. Tag	631	27	134	85	—	23,4	4,7	7,4	—
	4. Tag	1294	49	187	160	874	26,4	6,9	8,1	67,5
♀	1. Tag	259	24	104	81	—	10,8	2,5	3,2	
	2. Tag	566	29	120	91	—	19,5	4,7	6,2	—
	3. Tag	971	45	160	128	663	21,6	6,1	7,6	68,3
	4. Tag	1634	61	198	167	1230	26,8	8,3	9,8	75,2
♂	1. Tag	198	18	100	63	—	11,0	2,0	3,1	
	2. Tag	388	19	106	69	—	20,4	3,7	5,6	
	3. Tag	728	32	152	104	—	22,7	4,8	7,0	
	4. Tag	1052	40	195	126	—	26,3	5,4	8,4	

c) Maßzahlen geschlechtsreifer Tiere auf verschiedenen Nährböden.

Auf der Suche nach günstigen Nährböden für *P. zymosiphilus* wurde beobachtet, daß die Tiere in einigen der geprüften Medien eine auffallende Länge erreichten. Aus drei verschiedenen Nährböden wurden Tiere ausgemessen und die Mittelwerte miteinander verglichen (Tabellen 7 und 8). Da für die Männchen nur wenige Werte zur Verfügung standen, wurden einzig die Weibchen berücksichtigt. Als Nährböden fanden Verwendung: Zucker-Hefewasser (ZH: 4,5% Zucker, 0,05% Bäckerhefe); Lactoflavin-Zucker-Peptonwasser (LZP: 5 γ/cm³ Lactoflavin, 6% Zucker, 0,2% Pepton); Mais-Standardfutter für *Drosophila* (M: 0,8% Agar, 5% Zucker, 11% Mais, 1% Trockenhefe).

Tiere, die aus ZH- oder LZP-Futter stammen, zeigen gegenüber Individuen, die auf M (mit wenig Bäckerhefe) aufgewachsen sind, eine deutliche Zunahme der Körperlänge (Tabelle 7). Die Unterschiede sind statistisch gut gesichert. Auf Torutilin-Zucker-Peptonböden wurde ebenfalls eine Körperververlängerung um rund 1/3 festgestellt. Diese letzte Angabe beruht jedoch nur auf Schätzung. Auf was für Ursachen die Größenzunahme zurückzuführen ist, ist unbekannt. Möglicherweise spielen die Vitamine des B-Komplexes eine Rolle. Durch die Verlängerung des Körpers (Tabelle 7) wird die Vulva scheinbar distal verschoben. Da jedoch die Distanz Vulva-Schwanz ebenfalls zunimmt, bleibt sich die Lage annähernd gleich. Sie variiert jedoch innerhalb des gleichen Futters stark. *D* und *O* bleiben ziemlich konstant. Ihre Mittelwerte liegen zum Teil sogar etwas niedriger als die Mittelwerte der Stammkultur auf Mais. *S* wird leicht vergrößert. Von den relativen Maßen (Tabelle 8) verändert sich *a* am stärksten, da *L* sich sehr vergrößert, während *D* sich

Tabelle 7. Mittelwerte (Durchschnitte) der absoluten Maße von *P. zymosiphilus* (♀) auf drei verschiedenen Nährböden. (In Mikron.)

Futter	L			D			O			S			V			n
	M	m	σ	M	m	σ	M	m	σ	M	m	σ	M	m	σ	
M	1334 ± 39,6	167,8		64 ± 2,0	8,4		197 ± 2,7	10,9		154 ± 3,4	13,7		942 ± 39,6	153,3		18
ZH	1677 ± 123,7	371,0		66 ± 6,7	20,0		201 ± 3,8	11,5		159 ± 4,6	13,6		1107 ± 85,1	240,7		9
LZP	1647 ± 122,5	274,4		62 ± 5,5	12,4		195 ± 3,2	6,4		161 ± 6,3	14,1		1120 ± 136,5	305,8		5

M Mittelwert, m mittlerer Fehler, σ Streuung (mittlere quadratische Abweichung), n Anzahl der gemessenen Weibchen. Weitere Abkürzungen s. Abb. 1.

gleich bleibt. Die Indices *b* und *c* erfahren eine leichte Erhöhung.

Für die verschiedenen Maßzahlen liegen der mittlere Fehler und die Streuung bei Tieren aus ZH oder LZP, verglichen mit der Stammkultur auf Mais meist höher. In einigen Fällen jedoch sind die Werte gleich oder sogar kleiner.

D, *O*, *S* und *v* sind also diejenige Maße bei Weibchen von *P. zymosiphilus*, die sich in den verschiedenen Nährböden am wenigsten verändern.

Eine eingehendere Arbeit über die Variabilität von *Rhabditis teres* wurde 1938 von LUDWIG veröffentlicht. Neben den üblichen, in der Systematik verwendeten Maßen nach DE MAN berücksichtigt LUDWIG noch verschiedene andere Merkmale. Auch hier zeigte es sich, daß bei beiden Geschlechtern der Längen-Breitenindex sehr veränderlich und sein systematischer Wert somit gering ist. Dagegen bleiben *b* und *c* konstant.

Nach MICOLETZKY (1921) ist die Veränderlichkeit der in der Erde lebenden Nematoden fast ausnahmslos größer, als diejenige der Süßwassernematoden. Nur die Lage der weiblichen Geschlechtsöffnung scheint eine Ausnahme zu bilden. Bei den Erdnematoden variieren spezialisierte, an bestimmte Bodentypen angepaßte Arten am schwächsten, überall vorkommende Arten jedoch am stärksten. Durchschnittlich soll jedes der berücksichtigten Merkmale um den doppelten Wert des Minimums oder um ein Drittel des Mittelwertes nach oben oder nach unten schwanken. Diese Erkenntnis ist für die systematische Einschätzung der Werte besonders wichtig.

RAUTHER (1930) gibt für die Länge und den Durchmesser der Nematoden eine Variationsbreite bis zum 5,5fachen, hinsichtlich des Quotienten der beiden Maße bis zum 1,9fachen Minimalwert an.

Tabelle 8. Mittelwerte (Durchschnitte) der relativen Maße von *P. zymosiphilus* (♀) auf drei verschiedenen Nährböden.

(Abkürzungen wie in Tabelle 7.)

Futter	a			b			c			r %			n
	M	m	σ	M	m	σ	M	m	σ	M	m	σ	
M	20,8 ± 0,7		3,1	6,8 ± 0,2		0,8	8,8 ± 0,5		1,4	69,5 ± 1,9		7,2	18
ZH	26,3 ± 1,3		3,4	8,3 ± 0,5		1,6	10,5 ± 0,6		1,8	67,3 ± 2,0		5,6	9
LZP	26,4 ± 0,8		3,0	8,3 ± 0,8		2,3	10,2 ± 0,6		1,4	66,9 ± 3,8		8,5	5

Die Messung der Variationsbreite nur mit Hilfe des kleinsten und größten Wertes ist Zufälligkeiten stark ausgesetzt und daher ungünstig. Um aber meine Zahlen mit den Angaben von RAUTHER und MICOLETZKY vergleichen zu können, wurde die Veränderlichkeit von *P. zymosiphilus* ebenfalls auf diese Weise berechnet (Tabelle 9).

Tabelle 9. Die Variationsbreite der Körpermaße und ihrer Quotienten bei *P. zymosiphilus* (♀).

Die Zahlen bedeuten das xfache des Minimalwertes. (Abkürzungen s. Abb. 1.)

Futter	L	D	O	S	V	a	b	c	v	n
M	1,7	1,7	1,2	1,4	2,2	2,0	1,7	2,2	1,5	18
ZH	1,9	2,6	1,2	1,3	1,8	1,6	1,6	1,5	1,3	9
LZP	1,5	1,5	1,1	1,3	1,9	1,2	1,5	1,4	1,4	5

Tabelle 9 zeigt, daß die für *P. zymosiphilus* errechneten Zahlen in den von RAUTHER und MICOLETZKY angegebenen Bereichen liegen. Für diese sehr vereinfachte Art der Berechnung des Streuungsmaßes liegen jedoch zu wenige Messungen vor, als daß die Zahlen Anspruch auf unbedingte Gültigkeit erheben dürften. Es wird deshalb auf eine Diskussion verzichtet.

14. Sinnesleistungen.

Für *P. zymosiphilus* konnte eine Empfindlichkeit auf Licht-, Wärme- und Berührungsreize festgestellt werden. Die Tiere verhalten sich positiv phototaktisch. In teilweise abgeschirmten Zuchtschalen wird deutlich die der Lichtquelle zugewandte Seite bevorzugt. Gegenüber verschiedenen Temperaturen besteht offenbar ein Wahlvermögen, wie aus dem S. 393 beschriebenen Versuch hervorgeht. Berührungsreize, besonders am Kopfende, werden mit Zusammenzucken und Rückwärtskriechen beantwortet.

15. Zystenbildung.

Eine eigentliche Zystenbildung, wie sie für *Rhabditis coarctata* zuerst von LEUCKART [zit. STEINER 1919 (1)] und später von STEINER [1919 (1)]

beschrieben wurde, konnte bei unserer Art nie beobachtet werden. Einzig wurde festgestellt, daß sich *Panagrellus* zu Ende der ersten und anfangs der zweiten Lebensphase (S. 389) gegenüber Einwirkungen der Umwelt, wie Austrocknung, Temperaturveränderungen, Einfluß von Chemikalien (S. 410) usw., besonders resistent zeigt. Vereinzelte solcher Tiere konnten noch auf 7 Monate alten, anscheinend vollständig ausgetrockneten Maisböden aufgefunden werden. Nach Zugabe von etwas Wasser begannen sich die Nematoden langsam zu bewegen; sie hatten sich vorher offenbar in einem Zustand der Starre befunden. Rund $\frac{1}{6}$ der Tiere steckte in einer vom Körper leicht abgehobenen Hülle. Ob diese Tiere kurz vor einer Häutung standen, oder ob die Hülle einer besonders ausgebildeten Zyste entsprach, konnte nicht festgestellt werden. Vielleicht auch kann die Kutikula eines bestimmten Stadiums als Zyste funktionieren. Diese, bei *P. zymosiphilus* sehr selten und nur unter extremsten Umweltbedingungen beobachtete Zustandsform, ist möglicherweise mit der „Dauerlarve“ nach FUCHS (1915) und SACHS (1950) identisch.

Einzeltiere, die sich vom Nährboden entfernen und auf Glas kriechen, sind schon nach 1—2 min vollständig ausgetrocknet. Ganz anders verhält es sich, wenn eine größere Zahl von Nematoden beisammen ist. Bringt man 30—40 Tiere in einem Wassertropfen auf einen Objektträger und läßt die Flüssigkeit langsam verdunsten, so ballen sich die Tiere zusammen. Die äußerste Nematodenschicht trocknet ein und bildet auf diese Weise eine wirksame Schutzhülle für die im Innern sich befindenden Tiere. Solche Nematoden bewegen sich selbst nach einer Stunde wieder ganz normal im beigefügten Wasser. Auch in diesen Versuchen wurde die Beobachtung gemacht, daß sich Tiere der oben beschriebenen Altersklasse am widerstandsfähigsten erweisen. Eine Zystenbildung konnte aber auch hier nie beobachtet werden.

16. Übertragung.

P. zymosiphilus wurde vor einigen Jahren erstmals auf *Drosophila*-Kulturen unseres Institutes gefunden. Auf welche Weise die Einschleppung erfolgte, ist unbekannt. Einige Zeit später wurde eine zweite Infektion festgestellt: In der Tochtergeneration wild eingefangener Fliegen der Art *Drosophila obscuroides* traten plötzlich unzählige Nematoden auf. Es war dieselbe Nematodenart, jedoch von bedeutend kleinerer und gedrungener Gestalt. Anscheinend hatte die Elterngeneration als Überträger gedient. Ähnliche Beobachtungen stammen von MENZEL (1924), AUBERTOT (1925) und GOODEY (1943). Auch andere Insekten können als Nematodenüberträger dienen (vgl. FUCHS 1915; VÖLK 1950; SACHS

1950 u. a.) Um die Möglichkeit der Verschleppung durch Fliegen zu bestätigen, wurden verschiedene Versuche angesetzt.

a) 30 Fliegen *Drosophila melanogaster* und ebenso viele Puppen aus einer mit *Panagrellus* verseuchten Zucht wurden in Wasser sorgfältig gereinigt und dann seziiert. In der Leibeshöhle und im Verdauungstraktus konnten keine Nematoden gefunden werden.

Eine äußerliche Untersuchung ungewaschener Fliegen aus der gleichen Zucht ergab positive Resultate. Zwischen den einzelnen Körperabschnitten, an den Hüften, überhaupt an allen geschützten Stellen, konnten kleine, weiße Flecken festgestellt werden. Es waren Nematoden, meist kurz vor oder nach der Geschlechtsreife, jedoch keine trächtigen Weibchen. Die Tiere bewegten sich nur langsam im beigefügten Wasser, doch konnte keine eigentliche Zystenbildung beobachtet werden (S. 404).

b) Es wurden 50 Fliegen von *Drosophila melanogaster* 2—3 Tage nach dem Schlüpfen auf Maisböden mit Nematoden, einzeln auf frisches, sauberes Futter umgesetzt. Die Hälfte der Tiere war zuvor einer gründlichen Reinigung in Wasser unterworfen worden. Die Kulturen mit gereinigten Fliegen wurden zweimal kontrolliert (am 5. und 10. Tage). In keinem Tubus mit gewaschenen Fliegen konnte *P. zymosiphilus* nachgewiesen werden. 24 Zuchten von unbehandelten Fliegen hingegen waren infiziert; nur eine blieb frei von Nematoden.

c) 15, nur 2—3 Std alte Fliegen aus einer *Drosophila*-Zucht, deren Maisfutter mit *Panagrellus* verseucht war, wurden einzeln auf reines Futter umgesetzt. Wieder wurde nach 5 und 10 Tagen auf *Panagrellus* untersucht. Alle Proben verliefen negativ.

Mit diesen Versuchen ist die Möglichkeit der Verbreitung von *P. zymosiphilus* durch äußerliches Anhaften an Fliegen bewiesen. Eine hinreichend lange Kontaktzeit zwischen Fliege und Nematode scheint notwendig zu sein. Das auch *P. zymosiphilus* eigene „Winkvermögen“ (S. 399) wird der Verschleppung durch Fliegen förderlich sein und die zur Infektion benötigte Kontaktzeit herabsetzen (SACHS 1950; VÖLK 1950). Eine Übertragung von *P. zymosiphilus* im Magen-Darmkanal oder in der Leibeshöhle von Fruchtfliegen ist unwahrscheinlich. Ob die Nematoden von den Larven und Fliegen überhaupt aufgenommen werden können, hängt von der Beschaffenheit der Mundwerkzeuge und der Größe des Schlundes ab. Leider konnten darüber keine dienlichen Angaben gefunden werden. Ein Durchbohren der Kutikula ist für den unbewehrten *Panagrellus* sehr unglauwürdig.

VII. Zuchtversuche (Rein- und Mischkulturen¹).

1. Ziel.

Die meisten bekannten freilebenden Nematoden zeichnen sich aus durch: Relativ einfache und doch wohl differenzierte Organisation, Zellzahlkonstanz des Organismus, große Fertilität, rasche Generationenfolge, Durchsichtigkeit des Körpers, geringe Chromosomenzahl.

¹ Unter Reinkultur verstehen wir die Züchtung eines reinen Stammes von *P. zymosiphilus* ohne andere lebende Organismen (axenische Kultur). Unter Mischkultur verstehen wir die Züchtung eines reinen Stammes von *P. zymosiphilus* zusammen mit einer oder mit mehreren, bekannten oder unbekannten Fremdkomponenten (in unserem Falle Bakterien und Hefen).

Diese Eigenschaften bieten gute Voraussetzungen für morphologische, physiologische und genetische Arbeiten. Für die Analyse physiologischer Mutanten könnte sich ein neues und weites Arbeitsfeld ergeben. Die erste Mutante bei Nematoden (*Rhabditis briggsae*) wurde von NIGON und DOUGHERTY (1949) beschrieben.

Das notwendige Ausgangsmaterial zu solchen Untersuchungen ist eine Reinkultur, auf einem Nährboden, in dem alle notwendigen Substanzen enthalten und chemisch genau definierbar sind. Diese Überlegungen führten zu den Versuchen, die in den nächsten Abschnitten beschrieben werden.

2. Geschichtlicher Überblick.

PEREZ (1866) kultivierte erstmals verschiedene *Rhabditis*-Arten auf einem künstlichen Medium (Hühnereiklar). Eine weitere wichtige Neuerung wurde durch METCALF (1903) eingeführt. Er beschrieb eine Methode zur Entkeimung von *Rhabditis*-Eiern und ihre Weiterzucht auf heiß sterilisierten Nährböden (Spargelsaft-Agarplatten, vorverdaut durch Mikroorganismen). Neuere Autoren hingegen (DOUGHERTY und CALHOUN) bezweifeln an Hand eigener und fremder Arbeiten (DOUGHERTY und CALHOUN 1948, BRIGGS 1946) die Resultate von METCALF. Sie stellten übereinstimmend fest, daß für das Wachstum dieser *Rhabditis*-Arten zumindest ein hitzelabiler Faktor unbedingt notwendig sei.

ZIMMERMANN (1921) arbeitete mit dem Essigälchen (*Turbatrix aceti*). Durch mehrmaliges Waschen in sterilem Wasser und Wasserstoffsuperoxyd brachte er die Nematoden bakterienfrei. Es war ihm auch möglich, diese Tiere auf verschiedenen Nährböden mehrere Generationen lang weiter zu ziehen. So scheint es ZIMMERMANN als erstem gelungen zu sein, freilebende Nematoden in Reinkultur zu züchten.

1940 veröffentlichte GLASER eine Arbeit über die bakterienfreie Kultur eines parasitischen Nematoden (*Neoaplectana glaseri*) und 1948 glückte es zum zweiten Male freilebende Nematoden (*Rhabditis pellio*) keimfrei zu bringen und mehrere Monate lang weiter zu ziehen [DOUGHERTY 1949 (1)]. Mit Hilfe von Antibiotika und Desinfektionsmitteln stellten DOUGHERTY [1949 (2)] und DOUGHERTY und CALHOUN 1948 [(1 u. 2)] Mischkulturen mit zwei bekannten Komponenten her und gewannen daraus Reinkulturen. Die Analyse der verwendeten Nährsubstrate ist DOUGHERTY schon weitgehend gelungen [DOUGHERTY 1950 (1) und (2), DOUGHERTY und KEITH 1951].

3. Eigene Versuche.

a) Versuchsreihe I (Vorversuche).

In den ersten Versuchen wurde Bouillon, zum Teil mit Traubenzucker, als Zuchtmedium verwendet. Später wurden Nährböden auf der Grundlage von Zuckerwasser, mit Beigabe von Torutilin (S. 388), Lactoflavin, Trockenhefe und Pepton in verschiedenen Mischungen und Konzentrationen ausprobiert. Das p_H schwankte von 6,4—6,8 (gemessen mit Lyphanpapier). Die verwendeten Desinfektionsmittel sind: Desogen (0,05%, Einwirkungsdauer 10—15 min), Merfen (0,01%, 10—12 min), Kaliumtellurit-Kochsalzlösung (0,005% und 0,01%, 12 bis

18 Std). In einigen Versuchen wurde Kaliumtellurit (0,005% oder 0,01%) oder Penicillin (80 IE/cm³ Flüssigkeit) direkt dem Nährboden zugegeben. Die Zucht erfolgte in kleinen Petrischalen von 4,5 cm Durchmesser.

Es stellte sich heraus, daß die Desinfektionsmittel nicht die erhoffte Wirkung zeigten. Entweder gingen die behandelten Nematoden zugrunde, oder beide, Nematoden und Bakterien, vermehrten sich. In allen Zuchten ergab sich durchgehend eine merkwürdige Übereinstimmung im Auftreten der Bakterien und der Nematoden. Das zahlenmäßige Verhältnis der beiden schien von Bedeutung zu sein. In keimfreien oder sehr bakterienreichen Kulturen wurde das Aufkommen von *P. zymosiphilus* verhindert. Eine mäßige Infektion hingegen begünstigte die Vermehrung der Nematoden. Überdies konnte in Ausstrichen aus Zuchtmedien häufig eine Reinkultur von gleichartigen, gram-negativen, sehr kurzen, plumpen Stäbchen aus der Gruppe der Achromobakter nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse ließen vermuten, daß die Bakterien in der Physiologie der Nematoden eine wichtige Rolle spielen.

Sehr ungünstig erwies sich die Beschaffenheit der Nährböden. Nematodenkulturen in Flüssigkeiten fallen ungleichmäßig aus. Auch die Art der Zuchtgefäße befriedigte nicht. Die Gefahr einer Infektion durch Schimmel oder Bakterien aus der Luft war zu groß. In den folgenden Versuchen gebrauchte ich daher nur noch Reagenzgläser, die mit einem Wattestopfen verschlossen und mit Schrägagaren verschiedener Zusammensetzung beschickt waren.

b) Versuchsreihe II.

(Behandlung mit Merfen, Merthiolat, Desogen und Antibiotika.)

a) Desinfektionsmittel.

Antibiotika. Ich prüfte die Wirkung von Penicillin-Natrium oder -Kalium, Streptomycin-Kalziumchlorid oder -Sulfat und Terramycin-Hydrochlorid, in Wasser oder Bouillon gelöst. Die gleichzeitige oder stufenweise Anwendung dieser drei sich mehr oder weniger ergänzenden Antibiotika gewährleistet eine optimale Wirkung auf gram-positive und gram-negative Bakterien, Aerobier und Anaerobier.

Nach einigen Versuchen wurde Streptomycin nur noch in Form von Sulfat verwendet. Mischungen mit dem Sulfat blieben immer in Lösung, während sich mit dem Kalziumchlorid häufig ein voluminöser Niederschlag bildete. Wahrscheinlich wurde durch ein ungünstiges p_H die Streptomycinbase ausgeschieden.

Merfen, Merthiolat, Desogen. Merfen (Zyma) und Merthiolat (Lilly) gehören in die Gruppe der Quecksilbersalze. Merfen ist ein Phenylquecksilberborat, Merthiolat ein Quecksilberthiosalicylat. Desogen (Geigy) ist eine quaternäre Ammoniumverbindung. Alle drei Desinfektionsmittel wirken stark bakterizid.

β) Nährböden.

Reinkulturen (Nematoden). Bäckerhefe- oder Pepton-Agar. 2,5 g Bäckerhefe oder Pepton wurden in 100 cm³ Wasser 15 min lang gekocht und anschließend durch Kieselgur filtriert. Das Filtrat versetzte ich mit 6% Zucker und 2% Agar

und kochte alles zusammen nochmals einige Minuten. Das peptonhaltige Medium wurde hierauf mit 0,1% Torutilin ergänzt. Ich füllte in sterile Reagenzgläsern ab und sterilisierte die Nährböden im Dampfkochtopf bei 1,1—1,2 at während 45 min oder an drei aufeinanderfolgenden Tagen während je $\frac{1}{2}$ Std im Wasserbad. Zum Erkalten wurden die Röhrchen schräg gelegt.

Mischkulturen (Nematoden und Hefe). Davis-Agar mit lebender Hefe (DAH). 100 cm³ Holtfreter-Lösung¹ wurden mit 1 g Davis-Agar² und eventuell 6 g reiner Saccharose 2—3 min aufgekocht, bis sich die Flüssigkeit geklärt hatte. Die Weiterbehandlung der abgefüllten Reagenzgläsern erfolgte wie bei den Reinkulturen.

Einige Tage vor Gebrauch impfte ich den Schrägagar mit 3—4 Tropfen einer Aufschwemmung eines reinen Hefestammes, „M₂“ (S. 409), von *Saccharomyces cerevisiae*. Bis zum Beschicken der Böden mit Nematoden wurden die Gläsern bei 25° bebrütet.

γ) Versuchsanordnung.

Als Ausgangsmaterial verwendete ich einen Nematodenstamm aus *Drosophila*-Mais-Standardfutter, geimpft mit Bäckerhefe. Alle 2—3 Wochen wurden neue Kulturen angesetzt. Eine solche Dauerzucht, ungefähr 8 Tage alt, bei 18° gehalten, besteht aus zahlreichen kräftigen Tieren aller Stadien.

Mit einem Skalpell wurden die an der Futteroberfläche oder an der Schalenwand sich befindenden Tiere abgestrichen und zum Entfernen der gröbsten Verschmutzung einige Male in Wasser gespült. Dann wurden die Nematoden den verschiedenen Desinfektionsprozeduren unterworfen.

Bei Flüssigkeitswechsel sog ich die Nematoden meist mit einer Pipette hoch, wartete, bis sich die Tiere am Grunde angesammelt hatten und brachte sie dann mit wenig Flüssigkeit in eine frische, sterile kleine Petrischale oder in ein Reagenzglas. Manchmal sog ich nur mit einer Pipette die zu wechselnde Flüssigkeit weg und goß die nächstfolgende dazu. In seltenen Fällen wurden mit einem feinen Platindraht bestimmte Tiere herausgehoben und einzeln in das Desinfektionsmittel gebracht.

Da ich die Nematoden meist mit einem Tropfen Flüssigkeit in die neue Stufe überführte, wurden die Desinfektionsmittel dadurch leicht verdünnt. Die Konzentrationen sind also etwas zu hoch angegeben.

In einigen Versuchen unterzog ich die Nematoden einer einfachen Waschung in Merfen 0,005—0,013%, Merthiolat 1:1000 oder Desogen 0,05%. Durch mehrfache Spülungen mit sterilem Wasser wurden möglichst alle Spuren dieser Mittel entfernt.

Bei weitaus den meisten Versuchen jedoch setzte ich die Tiere einer stufenweisen Behandlung aus: Abwechselungsweise und mehrmals wurden sie der Einwirkung der Quecksilbersalze oder des Desogens und verschiedenen Mischungen der Antibiotika unterzogen. Die so behandelten Nematoden wurden auf die Nährböden (meist DAH) übertragen, im Wärmeschrank bei 25° belassen und dann in neue Reagenzröhrchen umgesetzt.

Die Übertragung innerhalb der einzelnen Versuche geschah folgendermaßen: Unter den üblichen Vorsichtsmaßnahmen wurde ungefähr $\frac{1}{3}$ cm³ einer Antibiotikar-Lösung in das alte Reagenzglas gegossen, die Nematoden auf der Agaroberfläche abgeschwemmt, rasch in ein neues Glas mit Agar gegossen, mit einem Wattestopfen

¹ Von HOLTFRETER modifizierte Ringerlösung folgender Zusammensetzung: NaCl 0,35 g, KCl 0,005 g, CaCl₂ 0,01 g, NaHCO₃ 0,02 g, destilliertes Wasser 100 cm³.

² Speziell gereinigter Neuseeländer-Agar mit standardisierter Gelierkraft.

verschlossen und das Gläschen waagrecht gelegt. Ein Tropfen dieser Transportflüssigkeit wurde gleichzeitig zur Prüfung auf Bakterien in ein Röhrchen mit Hefewasser¹ oder Bouillon gebracht und zur Anreicherung der Mikroorganismen bei 25° bebrütet. Anschließend wurden Gramfärbungen hergestellt. Bei jeder neuen Übertragung steigerte ich die Konzentration der Antibiotikallösung.

Der reine Hefestamm „M₂“ wurde in Reagenzgläsern in Bierwürze gezüchtet². Bei jeder Impfung der Davis-Schrägagare prüfte ich die verwendete Hefekultur gleichzeitig auf eventuell vorhandene Bakterien. Zu diesen Proben verwandte ich Hefewasser oder auch Bouillon. Ebenso wurden von den zur Übertragung bereiten Gläsern Stichproben ausgeführt.

Um nach der Desinfektion noch genügend lebensfähige Tiere zur Verfügung zu haben, muß stets mit einer großen Anzahl Nematoden gearbeitet werden. Soll sich eine Zucht kräftig entwickeln, so müssen mindestens ein Dutzend, besser 20—25 Tiere je Reagenzglas übertragen werden. Trotz dem großen Vorrat an Eiern und Spermien genügt ein einzelnes Pärchen in den seltensten Fällen. Selbst wenn zahlreiche Junge abgelegt werden, geht die Zucht häufig aus unerklärlichen Gründen ein. Möglicherweise ist die Futteroberfläche zu groß, so daß sich die Geschlechtspartner nicht finden können. Vielleicht auch werden von den Nematoden Stoffe ausgeschieden, die anregend auf das Wachstum wirken oder in andere physiologische Prozesse eingreifen.

Für jeden Versuch wurden gleichzeitig meist 6—8 Zuchten angesetzt. Alle Gläser eines Experimentes wurden bei Versuchsbeginn annähernd mit der gleichen Zahl von Nematoden beschickt.

δ) Ergebnisse und Diskussion.

Die Dosierung der Antibiotika richtete ich anfangs nach den in der Humanmedizin üblichen Mengen. Bei jedem neuen Versuch jedoch und von Übertragung zu Übertragung steigerte ich die Zahl der Einheiten, so daß ich zuletzt für Penicillin das 9fache, für Streptomycin das 15fache und für Terramycin sogar das 22fache der ursprünglichen Menge anwandte (Abb. 15).

Trotz diesen hohen Dosen von Antibiotika und einer Einwirkungs-dauer von 1—25 Std waren an *P. zymosiphilus* keine Veränderungen festzustellen. Die Fertilität und Vitalität jedenfalls litten nicht darunter.

Die Behandlung mit Merfen oder Merthiolat hingegen wirkte für 30—90% der Nematoden letal. Das Quecksilber fällt die Eiweiße; die Tiere werden fixiert. Durch Merfen oder Merthiolat getötete Tiere liegen selbst bei 25° noch tagelang, anscheinend unzersetzt, auf dem Nährboden. Die Anwendung gleich starker Lösungen eines dieser Mittel ergibt selten ein voraus zu berechnendes Ergebnis. Das eine Mal wird die gewählte Dosis von den Nematoden gut ertragen, das andere Mal wirkt sie tödlich.

¹ Hefewasser nach BERNHAUER: 100 g Bäckerhefe und 10 g Kieselgur werden mit 1 Liter Wasser 2.5—3 Std im Dampf erhitzt. Kurz aufkochen, abfiltrieren und während je 30 min an drei aufeinanderfolgenden Tagen im Wasserbad sterilisieren.

² Hefe (*Saccharomyces cerevisiae*) und Bierwürze stammen aus der Versuchsanstalt schweizerischer Bierbrauer in Zürich.

Möglicherweise spielen Umweltbedingungen, der Ernährungszustand und das Alter der Tiere eine Rolle. Die kleinen Larven sind anfälliger als die Adulttiere. Individuen mittlerer Größe scheinen am widerstandsfähigsten zu sein (S. 404). Nematoden, die direkt aus Mais-Dauerzuchten der Einwirkung dieser Quecksilbersalze unterworfen wurden, zeigten meist eine ziemlich starke Resistenz. Tiere hingegen, die während mehrerer Generationen auf Davis-Agar gezogen wurden, waren äußerst empfindlich. Ähnliche Beobachtungen werden auch an Bakterien gemacht.

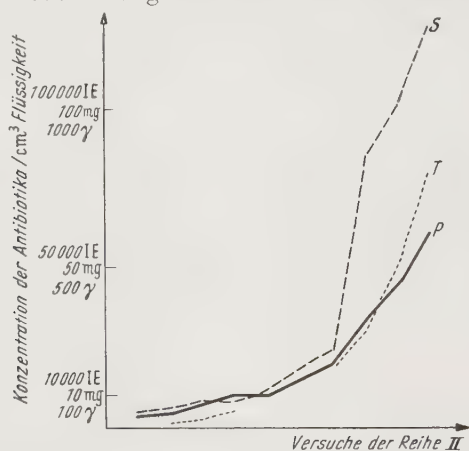


Abb. 15. Steigerung der Konzentration der Antibiotikamischung innerhalb der Versuchsreihe II. Penicillin (IE) —; Streptomycin (mg) — — —; Terramycin (γ) - - - -.

Wahrscheinlich wirken in beiden Fällen die Verunreinigungen als Schutzstoffe.

Desogen und die Quecksilbersalze wurden meist in folgenden Konzentrationen angewandt: Desogen 0,05 % (10 min), Merfen 0,01 % (5 bis 15 min) und Merthiolat 1:1000 unverdünnt (20—60 min).

Nach der Art der Desinfektion können die Versuche dieser Reihe in 2 Gruppen eingeteilt werden:

Einfache Behandlung mit einem Desinfektionsmittel.

In einigen Versuchen unterzog ich *P. zymosiphilus* nur einer einfachen Behandlung mit Merfen, Merthiolat oder Desogen. Es wurden die im vorhergehenden Abschnitt angegebenen Konzentrationen und Einwirkungszeiten erprobt. Die Zucht erfolgte auf Bäckerhefe- oder Pepton-Agar.

In einem einzigen Versuche erhielt ich keimfreie Röhrchen (zwei). Die Behandlung von Merthiolat wurde hier jedoch nur von einzelnen Tieren ertragen, die sich aber nicht vermehrten und langsam verkümmerten. In den übrigen Kulturen ließen sich wenige, gelegentlich auch zahlreiche gram-positive und gram-negative Stäbchen nachweisen.

Stufenweise Behandlung mit mehreren Desinfektionsmitteln.

In diese Gruppe gehören die meisten der zahlreichen Versuche. Die Desinfektion vollzog sich nach folgendem Schema: Die aus den Dauerzuchten stammenden

Nematoden wurden in mehrmals gewechseltem sterilem Wasser 30 min bis 4 Std lang gebadet. Hierauf unterzog ich die Tiere einer in Zeit, Konzentration und Anordnung ständig wechselnden, stufenweisen Behandlung mit einem oder beiden Quecksilbersalzen, seltener mit Desogen und verschiedenen Mischungen von zwei oder drei Antibiotika.

Einzelne Behandlungen wurden wiederholt, andere ausgelassen. Gezüchtet wurde auf DAH. Waren nach 6—7 Tagen die Hefen auf der Agaroberfläche weggefressen, so wurden die Nematoden mit einer stets höher dosierten Antibiotikauflösung abgeschwemmt und in neue DAH-Röhrchen übertragen. Je Versuch fanden 4—8 Übertragungen statt, so daß sich die Dauer eines Versuches über $3\frac{1}{2}$ —7 Wochen erstreckte.

Ob eine dieser Zuchten vollständig bakterienfrei wurde, kann nicht mit Sicherheit angegeben werden. Die Möglichkeit besteht aber bei drei zeitlich zuerst durchgeführten Versuchen. Hier wurde jedoch nur mit einer Gramfärbung geprüft und nicht, wie später regelmäßig, noch durch Anreicherung eventuell vorhandener Bakterien in verschiedenen Substraten. In diesen 3 Versuchen gingen die Nematoden nach einer Merthiolat-Behandlung mehr oder weniger rasch zugrunde. Es ist nicht leicht festzustellen, ob dies lediglich der Merthiolat-Wirkung oder dem Mangel an Bakterien oder noch weiteren Faktoren zuzuschreiben ist. Kontrollversuche (gleichzeitige Übertragung auf Mais oder ZH) fielen sehr unregelmäßig aus. Vergleicht man diese 3 Versuche mit den später angesetzten, so ist anzunehmen, die Schädigung der Nematoden sei in erster Linie durch Desinfektionsmittel verursacht.

In allen andern Versuchen wurde, selbst bei mehrmaliger Anwendung von Merfen oder Merthiolat und hochkonzentrierten Antibiotikamischungen, nie Keimfreiheit erreicht. Immer wieder traten, wenn auch nicht in großen Mengen, Bakterien auf. Meist wies ich gram-positive, kurze, dicke Stäbchen, zum Teil mit Endosporen, nach. Weniger häufig waren gram-negative Stäbchen und noch viel seltener Kokken, die wahrscheinlich aus der Luft stammten.

Die Konzentration oder Einwirkungsdauer der Quecksilberverbindungen oder des Desogens zu steigern, ist unter diesen Versuchsbedingungen kaum möglich. Die Antibiotika viel stärker zu dosieren, scheint ebenfalls nicht erfolgversprechend. Es ist anzunehmen, daß immer wieder resistente Bakterien auftreten werden. Einzig eine „Stoßtherapie“ oder die Verwendung von Desinfektionsmitteln, die auf ganz anderen chemischen Grundlagen beruhen, könnte zum Ziele führen.

c) Versuchsreihe III.

(Behandlung mit Sulfathiazol, Chloramin und Antibiotika.)

a) Desinfektionsmittel.

Antibiotika. Wie in Versuchsreihe II wurden Penicillin-Natrium oder -Kalium, Streptomycinsulfat und Terramycin-Hydrochlorid, in destilliertem Wasser oder in Bouillon gelöst, angewandt.

Sulfathiazol und Chloramin. Als Ausgangsmaterialien verwendete ich eine 10%ige Lösung von Sulfathiazol-Natrium und das in Pulverform erhältliche Natriumsulfaminochloratum (Chloramin). Die Wirkungsweise von Sulfathiazol ist hauptsächlich bakteriostatischer Natur. Chloramin hingegen entwickelt in wäßriger Lösung annähernd 20% aktives Chlor und wirkt dadurch stark bakterizid.

β) Nährböden.

Die behandelten Nematoden wurden auf Davis-Agar mit Saccharose, geimpft mit lebender „M₂“-Hefe, gezüchtet. Zusammensetzung und Herstellung des DAH vgl. Versuchsreihe II, S. 408.

γ) Versuchsanordnung.

Es wurde wieder derselbe *Panagrellus*-Stamm aus *Drosophila*-Mais verwendet. In allen Versuchen befreite ich zuerst die Nematoden von den größten Verunreinigungen durch Waschen (1—1¼ Std) in mehrmals gewechseltem, sterilem, destilliertem Wasser. Hierauf wurden die Tiere in Glasblöcken dem Desinfektionsbad unterworfen. Es wurde versucht, diejenigen Konzentrationen zu ermitteln, die von annähernd 10% der Nematoden für die Dauer von rund 15 min ertragen wurde. Für Chloramin schien eine 2,5%-Lösung während 10—20 min geeignet oder eine 5%-Lösung während 10—15 min. Für Sulfathiazol wurde eine 5%-Lösung gewählt, mit 20—30 min Einwirkungsdauer. Nach Ablauf der gewählten Zeitspanne sog ich mit einer Pipette die überstehende Flüssigkeit ab und spülte *P. zymosiphilus* einige Male sorgfältig mit sterilem, destilliertem Wasser. Nun wurden die Tiere mit einer Pipette in ein Reagenzglas mit sterilem Wasser oder in eine Antibiotika-Lösung gebracht und darin 45 min bis 2 Std (Wasser) oder 21—24 Std (Antibiotika) belassen. Gezüchtet wurde auf DAH bei 18°. Alle 3 Wochen mußte der Nährboden erneuert werden. Die Übertragungen erfolgten mit einer Antibiotikallösung oder mit sterilem, destilliertem Wasser.

δ) Ergebnisse und Diskussion.

Nach einigen, scheinbar negativ verlaufenen Experimenten mit Chloramin und besonders mit Sulfathiazol, wurden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen die Parallelversuche Nr. 46 und Nr. 47 angesetzt. Die vorbereitende Waschung der Nematoden dauerte 1¼ Std. Hierauf wurden die Tiere während 15 min mit 5%-Chloramin behandelt, sorgfältig gespült und für Versuch 46 sofort auf 12 DAH-Röhrchen überimpft. Die Nematoden für Versuch 47 hingegen hatten zusätzlich eine 21 Std dauernde Behandlung mit in Bouillon gelöstem Penicillin (35000 IE/cm³), Streptomycin (71,4 mg/cm³) und Terramycin (2000 γ/cm³) zu überstehen. Erst jetzt erfolgte die Übertragung auf DAH (15 Röhrchen). In beiden Versuchen wurden in jedes Reagenzglas 100—150 Nematoden überführt, doch waren durch die Behandlung 90—95% zugrunde gegangen. Zur ersten Übertragung auf neuen DAH wurde für alle 37 Kulturen eine Antibiotikallösung verwendet, mit 92000 IE Penicillin, 115,4 mg Streptomycin und 2000 γ Terramycin je Kubikzentimeter Wasser. Beim zweiten Überimpfen gebrauchte ich eine etwas schwächere Antibiotikallösung und für die folgenden Übertragungen wurde nur noch steriles, destilliertes Wasser gebraucht.

Mehrmals erfolgten Kontrollen der Zuchten in Hefewasser (S. 409). Die geimpften Hefewasser-Röhrchen wurden einige Tage bei 25° bebrütet und hernach geprüft. In einigen Gläsern fanden sich noch lebende Nematoden. Die Flüssigkeit blieb durchwegs klar, doch hatte sich in allen Proben ein mehr oder weniger starker Niederschlag gebildet. Bei der mikroskopischen Prüfung des Sedimentes konnten nur Hefezellen und ungeformte Bestandteile nachgewiesen werden. Der amorphe Anteil dürfte aus Stoffwechselprodukten der Nematoden bestehen. Auf dieselbe Weise, wie für das Hefewasser angegeben, wurde in Bouillon und zum Teil auch in Leberbouillon geprüft. Von jedem Zuchtgläsern wurde überdies ein anaerob verschlossener Schrägagar¹ und anaerob verschlossenes Hefewasser angesetzt. Weder in Nativ-, noch in Gram-Präparaten konnten in einer dieser beschriebenen Proben je Bakterien nachgewiesen werden. Zur Bestätigung der Keimfreiheit stellte ich für jedes der 37 Zuchtgläsern aus geimpftem Hefewasser eine Verdünnungsreihe von 1:10 bis 1:1 Mill. her. Jeder Verdünnung wurde 1 cm³ entnommen und mit Nähragar zu einer Platte gegossen. Die derart geimpften Platten blieben zur Entwicklung der Kolonien bei 25—26° aufbewahrt. Tabelle 10 zeigt, in welchem Umfange die bebrüteten Platten untersucht wurden. In dieser Zusammenstellung wird für Versuch 47 die Gesamtzahl der Kolonien je Platte und der Anteil der mikroskopisch

Tabelle 10. Prüfung der mit Hefewasser geimpften Agarplatten auf Bakterienfreiheit.

Nr.	Zucht	Verdünnungsgrad					
		10 ⁻⁶		10 ⁻⁵		10 ⁻⁴	
		K.	G. K.	K.	G. K.	K.	G. K.
1	47	10	10	83	17	∞	8
2	47	7	7	36	18	∞	8
3	47	21	20	180	18	∞	16
4	47	31	18	277	26	∞	12
5	47	13	13	98	24	∞	15
6	47	13	8	108	18	∞	8
7	47	27	25	323	17	∞	18
8	47	23	19	263	12	∞	10
9	47	15	12	113	12	∞	20
10	47	18	17	103	24	∞	12
11	47	86	68	∞	25	∞	5
12	47	23	18	247	24	∞	12
13	47	16	14	151	17	∞	6
14	47	42	40	335	24	∞	12
15	47	4	4	39	24	∞	12

K. Gesamtzahl der Kolonien je Platte; G. K. Zahl der mikroskopisch geprüften Kolonien je Platte.

¹ Der für die Reinheitsproben verwendete Nähragar stammt aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich. Er wird aus der üblichen Rindfleischbouillon hergestellt und mit 1,5% Agar gesteuft.

geprüften Kolonien angegeben. In gleicher Weise wurde Versuch 46 kontrolliert.

Von den Platten mit der Verdünnung 10^{-2} und 10^{-3} wurden nur vereinzelte Stichproben ausgeführt. Alle untersuchten Kolonien bestanden aus Hefezellen. Auf einigen Platten bildeten die im Agar sich befindenden Hefen Pseudomyzelien. Die auf der Agaroberfläche oder am Schalengrunde wachsenden Kolonien hingegen setzten sich aus normal geformten Zellen zusammen. Durch Überimpfen der Pseudomyzelien in ein optimales Medium (Bierwürze) wurden wieder Hefezellen der üblichen Form gebildet.

Trotz sorgfältiger Prüfung konnten also in den Zuchten der Versuche 46 und 47 keine Bakterien nachgewiesen werden. *Es darf daher angenommen werden, daß es nach ZIMMERMANN (1921) und DOUGHERTY [1949 (1)] erneut gelungen ist, freilebende Nematoden ohne Bakterien zu kultivieren.* Eigenartigerweise gehören alle bis jetzt bakterienfrei züchtbaren Nematoden nahe verwandten Gruppen an.

Bei der Prüfung der erwähnten Versuche auf Keimfreiheit wurden gleichzeitig noch einige andere Zuchten aus früher angesetzten Experimenten untersucht. 28 Nematodenkulturen hatte ich je zur Hälfte mit Chloramin oder Sulfathiazol behandelt. Die ersten Übertragungen erfolgten, gleich wie bei den Versuchen 46 und 47, mit einer Antibiotikauflösung. Später wurde nur noch steriles, destilliertes Wasser verwendet. Von den 28 Hefewasserproben blieben 6 klar. Die dazugehörenden Zuchten wurden weitergeführt und mit den Versuchen 46 und 47 gründlich geprüft. Auch hier konnten in keinem Falle Bakterien nachgewiesen werden. Fünf der keimfreien Kulturen waren mit 2,5% Chloramin (10 oder 20 min) oder 5% Chloramin (15 min) behandelt worden. Eine einzige Zucht stammte aus einem Versuch mit Sulfathiazol (5% während 30 min).

Die von den Nematoden tolerierten Chloramin-Konzentrationen wirken also auf die betreffenden Bakterien bedeutend stärker als die entsprechenden Dosen von Sulfathiazol. In vereinzelten Fällen kann sogar 2,5% Chloramin mit einer Einwirkungsdauer von 10 min zur Abtötung aller Bakterien genügen. Mit einer 5%-Lösung während 15 min hingegen wurde, ohne Ausnahme, eine vollständige Desinfektion erreicht. Die Anwendung von Sulfathiazol ist in unserem Falle weniger günstig.

Seit 18 bzw. 19 Monaten wird an unserem Institut *P. zymosiphilus* in Mischkulturen mit einem reinen Hefestamm kultiviert. Einige Gläserchen werden vorläufig weitergezüchtet, um zu untersuchen, ob das Fehlen von Bakterien *P. zymosiphilus* in irgendeiner Weise zu schädigen

vermag. *Bis jetzt, d. h. nach 110—125 Generationen, läßt sich noch keine Veränderung feststellen.* Größe, Vitalität und Fertilität sind anscheinend normal geblieben.

d) Versuchsreihe IV.

(Behandlung mit UV-Strahlen.)

Als weitere Methode zur Befreiung der Nematoden von Bakterien wurde eine Bestrahlung mit UV erprobt. Tiere aus Maisfutter wurden nach der üblichen Vorbehandlung in kleine Petrischalen mit einem Wasserstand von 9 mm gebracht. Da sich die schwimmenden Nematoden nur wenig oberhalb des Schalengrundes aufhalten, betrug die Höhe der schützenden Wasserschicht annähernd 8 mm. Diese Schalen wurden nun während 3, 5 oder 7 min mit UV bestrahlt, und jede der 3 Nematodengruppen auf 4 Gläschen mit DAH verteilt. Als UV-Quelle verwendete ich eine Hanauer Quarzlampe (Jubiläumsmodell 1931, Handlampe). Vor Gebrauch wurde der Brenner während einer halben Stunde vorgeheizt. Der Lampenabstand betrug 36,5 cm.

Die Bestrahlung von 3 und 5 min Dauer überlebten rund $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{4}$ der Nematoden. Die verbleibenden Tiere vermehrten sich ziemlich gut. Die Behandlung von 7 min Dauer hingegen ertrugen nur vereinzelte Tiere. Diese Zuchten gingen nach 8 bis 10 Tagen ein. Alle 12 Hefewasserproben trübten sich und einige davon färbten sich sogar leicht grün. Diese Verfärbung bildete sich an der Oberfläche am stärksten aus und nahm gegen unten allmählich ab. Die Gram-Färbungen, sowohl aus unverfärbtem wie aus verfärbtem Hefewasser, zeigten das gleiche Bild: In allen Proben wurden, anscheinend in Reinkultur, lange, plumpe, leicht gebogene Stäbchen nachgewiesen. Die zum Teil ungleich großen Bakterien treten häufig in diplo auf. Sie sind von einer Kapsel umgeben und reagieren gram-positiv. Ohne Schwierigkeiten konnte eine Reinkultur auf Fleischwasser-Agar weitergezüchtet werden. Die Farbe des Hefewassers wird durch die verschiedenen Bakterienkonzentrationen bedingt sein.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß mit UV-Bestrahlung keine Keimfreiheit erreicht wurde. Es gelang jedoch anscheinend alle Bakterien abzutöten, bis auf eine Reinkultur von gram-positiven, langen, plumpen Stäbchen mit Kapsel, welche Hefewasser grün färben. Weitere Versuche mit UV wurden nicht unternommen.

Zusammenfassung.

1. Eine im Zoologisch-Vergleichend-anatomischen Institut der Universität Zürich auf *Drosophila*-Maisfutter gefundene Nematodenart wird beschrieben und als *Panagrellus zymosipilus* klassifiziert. Die nächste verwandte Art ist *P. redivivoides* (GOODEY 1943).

2. Eine in Massenkulturen, ganz besonders in älteren Zuchten häufig auftretende Abweichung vom Normaltypus („Kropftier“) wird beschrieben. Eine Heredität dieser Variante konnte nicht nachgewiesen werden.

3. Die Lebensphasen von *P. zymosiphilus* umfassen bei Zimmertemperatur in Zucker-Hefewasser folgende Zeiten: Progressive Phase (Befruchtung der Eizelle bis Vollreife) 4,5—5 Tage; stationäre Phase (Eintritt der Vollreife bis Senium) 6—8 Tage; regressive Phase (Beginn des Seniums bis zum physiologischen Tode) 3—5 Tage. Von der Befruchtung der Eizelle bis zum Tode des Individuums verstreichen bei Zimmertemperatur also 13,5—18 Tage. Das durchschnittliche Alter beträgt 12,9 Tage für die ♀ ($n = 58$) und 15,8 Tage für die ♂ ($n = 50$). Die ♀ sterben also durchschnittlich 3 Tage früher als die ♂. Vom Schlüpfakt der G_1 bis zum Schlüpfen der G_2 verstreichen bei Zimmertemperatur 4—5 Tage.

4. Durch Erhöhung der Temperatur auf 25° wird die Entwicklung beschleunigt und das durchschnittliche Alter herabgesetzt. Es beträgt für die ♀ 10,0 ($n = 29$), für die ♂ 11,5 Tage ($n = 32$). Die Zeitspanne vom Schlüpfen der G_1 bis zum Schlüpfen der G_2 umfaßt bei 25° nur 2—3 Tage.

5. Fortpflanzung und Vermehrung findet in Zucker-Hefewasser bei Temperaturen von 12—29° statt. Die optimale Temperatur befindet sich zwischen 21 und 26°, die Temperaturpessima liegen zwischen 9—11° und 29,5—30°. Im Verlaufe von 3 Jahren konnte eine Erhöhung der oberen kritischen Temperatur für Vermehrung (von 26° auf 29°) und der oberen pessimalen Temperaturgrenze (von 27° auf 30°) festgestellt werden. Auf Maisböden vermehrt sich *P. zymosiphilus* zwischen 6° und 33°, die pessimalen Temperaturen betragen 2—3° und 33,5°.

6. In Medien mit gekochter Hefe sind Vermehrung und Wachstum von *P. zymosiphilus* geringer, als auf entsprechenden Böden mit lebender Hefe.

7. Die durchschnittliche Nachkommenzahl je ♀ ($n = 29$) beträgt in Zucker-Hefewasser bei Zimmertemperatur 141 Junge. Die maximale beobachtete Anzahl beträgt 223 Junge.

8. An *P. zymosiphilus* konnten 4 Häutungen beobachtet werden. Die erste Häutung erfolgte 2—3 Std, die zweite 14—15 Std nach dem Schlüpfen. Eine dritte Häutung wurde 2—2½ Tage und eine vierte Häutung 3—3½ Tage nach der Geburt festgestellt.

9. Das Geschlechtsverhältnis (Anzahl ♂ je 100 ♀) von Populationen und von Nachkommen eines Elternpaares liegt bei 70. Eine Beeinflussung durch irgendwelche Faktoren konnte nicht mit Sicherheit festgestellt werden. Möglicherweise spielen Jahreszeit und Nahrungsbedingungen eine Rolle.

10. *P. zymosiphilus* gehört zu den Nematoden mit obligat bisexueller Fortpflanzung. Kopulationen können häufig beobachtet werden.

11. Haftdrüsen konnten nicht nachgewiesen werden, doch wurde festgestellt, daß sich *P. zymosiphilus* mit dem Schwanzende am Boden festkleben kann. Außerdem sind häufig Ansammlungen von „nestbauenden“ Individuen zu beobachten.

12. Die absoluten und relativen Körpermaße sind von der Zusammensetzung des Nährbodens abhängig. Die Variabilität der Durchschnitte aus den verschiedenen Nährböden ist groß.

13. *P. zymosiphilus* reagiert auf Licht-, Wärme- und Berührungsreize.

14. Eine eigentliche Zystenbildung konnte nicht beobachtet werden. Tiere eines bestimmten Stadiums sind jedoch gegen Umwelteinflüsse (Austrocknung, Chemikalien, Temperaturschwankungen) besonders resistent.

15. *P. zymosiphilus* kann durch Fliegen passiv verbreitet werden.

16. Versuche, *P. zymosiphilus* auf Nährböden verschiedener Zusammensetzung rein (axenisch) zu kultivieren, blieben erfolglos.

17. Es gelang jedoch, *P. zymosiphilus* bakterienfrei, in Mischkultur mit einem reinen Hefestamm (*Saccharomyces cerevisiae*) zu züchten. Als Desinfektionsmittel wurden Chloramin oder Sulfathiazol und Antibiotika verwendet.

18. Mit UV-Bestrahlung konnten alle Bakterien bis auf eine Reinkultur von gram-positiven, plumpen, langen Stäbchen mit Kapsel abgetötet werden.

Literatur.

- ANDRÉ, E.: Sur la fixation et la préparation des Némathelminthes. Z. wiss. Mikrosk. **24**, 278 (1907). — BASTIAN, H. C.: II. Monograph on the *Anguillulidae*, or free nematoids, marine, land and freshwater. Trans. Linnean Soc. London **25**, 73 (1865). — BRIGGS, M. P.: Culture methode for a free-living soil nematode. M. A. Thesis, Stanford University 1946, Manuskript. — BRUNOLD, E.: Über eine neue Nematodenart der Gattung *Anguillula* aus *Drosophila*-Nährböden. Vjschr. naturforsch. Ges. Zürich **95**, 148 (1950). — BÜTSCHLI, O.: Beiträge zur Kenntnis der freilebenden Nematoden. Nova Acta Leopold. **36**, 1 (1873). — Zur Kenntnis der freilebenden Nematoden, insbesondere der des Kieler Hafens. Abh. Senckenberg. naturforsch. Ges. **9**, 1 (1874). — BURKHALTER, M.: Die Verbreitung der freilebenden Erdnematoden im Massiv der Rochers de Naye. Rev. suisse Zool. **35**, 389 (1928). — CHITWOOD, B. G.: A revised classification of the Nematoda. J. of Parasitol. **20**, 131 (1933). — CHITWOOD, B. G., and M. B. CHITWOOD: An introduction to nematology. Sect. 1. Washington 1937 u. Baltimore 1950. — COBB, N. A.: North American free-living freshwater nematodes; contribution to a science of nematology. II. Trans. Amer. Microsc. Soc. **33**, 69 (1914). — Nematology. VIII. The orders and classes of nemas. Waverly Press 1919, 213. — One hundred new

nemas, contributions to a science of nematology. IX. Waverly Press 1920, 215. — CONINCK, L. A. DE, et J. H. STEKHOVEN: The freeliving marine nemas of the Belgian Coast II, with general remarks on the structure and the system of nemas. Mém. Mus. Hist. Nat. Belg. Mém. 58, 1 (1933). — DOTTERWEICH, H.: Die Züchtung von *Rhabditis teres* (A. SCHN.) für physiologische und genetische Untersuchungen. Zool. Anz. 122, 266 (1938). — DOUGHERTY, E. C.: (1) The role of free-living nematodes in genetic research. Proc. 8. Internat. Congr. Genetics. Hereditas (Lund) Suppl. 1949, 562. — (2) Pure culturing of a free-living rhabditid nematode. C. R. 13. Congr. Internat. Zoologie Paris 1948. 1949, 447. — Sterile pieces of chick embryo as a medium for the indefinite axenic cultivation of *Rhabditis briggsae* DOUGHERTY and NIGON 1949. Science (Lancaster, Pa.) 111, 258 (1950). — (1) Some sources and characteristics of the heat-labile nutritional requirement(s) of the nematode, *Rhabditis briggsae*. Anat. Rec. 108, 415 (1950). — (2) The axenic cultivation of *Rhabditis briggsae* DOUGHERTY and NIGON 1949. II. Some sources and characteristics of „Factor Rb“. Exper. Parasitology 1, 34 (1950). — DOUGHERTY, E. C., and H. G. CALHOUN: (1) Techniques for temporarily freeing soil nematodes from bacteria by the use of antibiotics and merthiolate. Anat. Rec. 100, 395 (1948). — (2) Experiences in culturing *Rhabditis pellio* (SCHNEIDER 1866), BÜTSCHLI 1873, and related soil nematodes. Proc. Helm. Soc. Wash. 15, 55 (1948). — DOUGHERTY, E. C., and D. F. KEITH: The axenic cultivation of *Rhabditis briggsae* on a dialysed liver protein fraction with known supplementation. Anat. Rec. 111, 571 (1951). — DOUGHERTY, E. C., and V. NIGON: A new species of the free-living nematode genus *Rhabditis* of interest in comparative physiology and genetics. J. of Parasitol. 35, 11 (1949). — DOUGHERTY, E. C., J. C. RAPHAEL and C. H. ALTON: Improved axenic cultivation of *Rhabditis briggsae* DOUGHERTY and NIGON 1949. Anat. Rec. 105, 532 (1949). — The axenic cultivation of *Rhabditis briggsae* DOUGHERTY and NIGON 1949. 1. Experiments with chick embryo juice and chemically defined media. Proc. Helm. Soc. Wash. 17, 1 (1950). — EBERTH, C. J.: Untersuchungen über Nematoden. Leipzig 1863. — FILIPJEV, I. N., and J. H. SCHUURMANS STEKHOVEN: A manual of agricultural Helminthology. Leiden 1941. — FUCHS, G.: Die Naturgeschichte der Nematoden und einiger anderer Parasiten, 1. des *Ips typographus* L., 2. des *Hyllobius abietis* L. Zool. Jb., Abt. System., Ökol. u. Geogr. 38, 109 (1915). — GLASER, R. W.: Continued culture of a nematode parasitic in the Japanese beetle. J. of Exper. Zool. 84, 1 (1940). — The bacteria free culture of a nematode parasite. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 43, 512 (1940). — GOETSCH, W.: Vitamin T, ein neuartiger Wirkstoff. Österr. zool. Z. 1, 49 (1946). — Beiträge zur biologischen Analyse des Vitamin T-Komplexes. Z. Vitamin-, Hormon- u. Fermentforsch. 1, 87 (1947). — GOODEY, T.: The eel-worm in paper hangers' paste *Anguillula reviviva* (LINN. 1767), STILES and HASSAL 1905. Ann. Mag. Nat. Hist., Ser. IX, 10, 297 (1922). — On the systematic relationships of the vinegar eel-worm, *Turbatrix aceti*, and its congeners, with a description of a new species. J. of Helminth. 21, 1 (1943). — A note on the subfamily *Turbatricinae* and the genus *Turbator* GOODEY 1943. J. of Helminth. 21, 69 (1945). — Soil and fresh-water nematodes. London 1951. — HOFMÄNNER, B., u. R. MENZEL: Die freilebenden Nematoden der Schweiz. Rev. suisse Zool. 23, 109 (1915). — JÄGERSKIÖLD, L. A.: Weitere Beiträge zur Kenntnis der Nematoden. Stockholm 1901. — JAMMES, L.: Recherches sur l'organisation et le développement des nématodes. Diss. Paris 1894. — KELLER, H.: Untersuchungen über die intrazellulären Bakterien von *Pellomyxa palustris* GREEF. Z. Naturforsch. 4b, 293 (1949). — KOCH, A., K. OFFHAUS, J. SCHWARZ u. J. BANDIER: Symbioseforschung und Medizin. Naturwiss. 38, 339 (1951). — LEUCKART, R.: Neue Beiträge zur Kenntnis

des Baues und der Lebensgeschichte der Nematoden. Abh. Kgl. sächs. Ges. Wiss., Math.-physik. Kl. **13**, 567 (1887). — LUDWIG, H.: Die Variabilität von *Rhabditis teres* (A. SCHN.) unter veränderten Ernährungsbedingungen. Z. wiss. Zool. **151**, 291 (1938). — MAN, J. G. DE: Onderzoekingen over frij in de aarde levende Nematoden. Tijdschr. nederl. dierkd. Ver.igg **2** (1876). — Die frei in der Erde und im süßen Wasser lebenden Nematoden der niederländischen Fauna. Leiden 1884. — Beiträge zur Kenntniss der im weißen Schleimfluß der Eichen lebenden Anguilluliden. Zool. Jb., Abt. System., Ökol. u. Geogr. **29**, 359 (1910). — *Anguillula Silusiae* DE MAN, eine neue in den sogenannten Bierfilzen lebende Art der Gattung *Anguillula* EHRR. Ann. Soc. roy. zool. Belg. **48**, 1 (1914). — MARCINOWSKY, K.: Parasitisch und semiparasitisch an Pflanzen lebende Nematoden. Arb. ksl. biol. Anst. Land- u. Forstwirtsch. **7**, 1 (1909). — MAUPAS, E.: La mue et l'enkystement chez les nématodes. Archives de Zool., III. Ser. **7**, 563 (1899). — Modes et formes de reproduction des nématodes. Archives de Zool., III. Ser. **8**, 463 (1900). — MENZEL, R.: Beiträge zur Kenntnis der Mikrofauna von Niederländisch-Ostindien. II. Über den tierischen Inhalt der Kannen von *Nepenthes melamorphora* REINW. mit besonderer Berücksichtigung der Nematoden. Treubia **3**, 116 (1922). — Über die Verbreitung von *Rhabditis*-Larven durch Dipteren. Zool. Anz. **58**, 345 (1924). — Über die Nahrung der freilebenden Nematoden und die Art ihrer Aufnahme. Verh. naturforsch. Ges. Basel **31** (1924). — MESCHKAT, A.: Der Bewuchs in den Röhrchen des Plattensees. Arch. Hydrobiol. **27**, 436 (1934). — METCALF, H.: Cultural studies of a nematode associated with plant decay. Trans. Amer. Microsc. Soc. **24**, 89 (1903). — MICOLETZKY, H.: Die Bedeutung der freilebenden Nematoden für die Experimentalzoologie. Verh. zool.-bot. Ges. Wien **66**, 52 (1916). — Die freilebenden Erdnematoden. Arch. Naturgesch., Abt. A **87**, 1 (1921). — Die freilebenden Süßwasser-Moornematoden Dänemarks. Vidensk. Selskabs. Skr. **10**, 55 (1925). — MICOLETZKY, H., u. R. MENZEL: Beiträge zur Kenntnis der Mikrofauna von Niederländisch-Ostindien. VII. *Anguillula nepenthicola* MENZEL aus den Kannen von *Nepenthes gymnaphora* NEES bei Tjibodas. Treubia **10**, 285 (1928). — NIGON, V.: Modalités de la reproduction et déterminisme du sexe chez quelques nématodes libres. Ann. des Sci. natur., Ser. XI, **11**, 1 (1949). — NIGON, V., and E. C. DOUGHERTY: Reproductive patterns and attempts at reciprocal crossing of *Rhabditis elegans* MAUPAS 1900, and *Rhabditis briggsae* DOUGHERTY and NIGON 1949. J. of Exper. Zool. **112**, 485 (1949). — A dwarf mutation in a nematode. J. Hered. **41**, 103 (1950). — OERLEY, L.: Monographie der Anguilluliden. Természetráji Füzetek, Budapest **4** (1880). — OSCHKE, G.: Die Bedeutung der Osmoregulation und des Winkverhaltens für freilebende Nematoden. Z. Morph. u. Ökol. Tiere **41**, 54 (1952). — PAI, S.: Die Phasen des Lebenszyklus der *Anguillula aceti* EHRRBG. und ihre experimentell-morphologische Beeinflussung. Z. wiss. Zool. **131**, 293 (1928). — PEREZ, M.: Recherches anatomiques et physiologiques sur l'anguillule terrestre (*Rhabditis terricola*, DUJARDIN). Ann. des Sci. natur. V. Ser., **6**, 152 (1866). — PETERS, B. G.: On the nomenclature of the vinegar eelworm. J. of Heminth. **5**, 133 (1927). — RAUTHER, M.: Nematodes. In W. KÜENTHAL, Handbuch der Zoologie, Bd. 2. Berlin u. Leipzig 1930. — SACHS, H.: Die Nematodenfauna der Rinderekremente. Zool. Jb., Abt. System., Ökol. u. Geogr. **79**, 209 (1950). — SCHNEIDER, W.: Monographie der Nematoden. Berlin 1866. — SCHNEIDER, W.: Vermes. In F. DAHL, Tierwelt Deutschlands, 36. Teil, 1939. — SCHULZ, E.: Die Orientierung des Nematodenkörpers und die halbessile Lebensweise der freilebenden Nematoden. Zool. Anz. **111**, 123 (1935). — SCHURMANS STEKHOFEN, J. H.: Nematodes and Nematomorphs. In H. G. BRONN, Klassen und Ordnungen des Tierreichs, Bd. 4, 2. Abt., 3. Buch, S. 365. Leipzig 1939. — SCHURMANS STEKHOFEN, J. H.,

u. L. A. DE CONINCK: Morphologische Fragen. Zur Systematik der freilebenden Nematoden. Verh. deutsch. zool. Ges. **35**, 138 (1933). — STAUFFER, H.: Die Lokomotion der Nematoden. Jb. Univ. Bern, Phil. Fak. II, **1**, 92 (1921). — STEINER, G.: (1) Bemerkungen über die sogenannte Verpuppung der *Rhabditis coarctata* LEUCKART und das Bilden von Zysten bei Nematoden überhaupt. Biol. Zbl. **39**, 59 (1919). — (2) Untersuchungen über den allgemeinen Bauplan des Nematodenkörpers. Habil.-Schrift Jena 1919. — VÖLK, J.: Die Nematoden der Regenwürmer und der aasbesuchenden Käfer. Zool. Jb., Abt. System., Ökol. u. Geogr. **79**, 1 (1950). — WAGTENDONK, W. J., and P. L. HACKETT: The culture of *Paramecium aurelia* in the absence of other living organisms. Proc. Acad. Natur. Sci. Philad. **35**, 155 (1949). — WÜLKER, C.: Nematoden. In P. SCHULZE, Biologie der Tiere Deutschlands. Berlin 1924. — ZIMMERMANN, A.: Recherches expérimentales sur l'élevage aseptique de l'Anguillule du vinaigre. Rev. suisse Zool. **28**, 357 (1921).

Dr. ELSBETH BRUNOLD, Zoolog.-vergleichend anatomisches Institut
der Universität Zürich.

Curriculum vitae.

Am 17. Juni 1917 wurde ich als Tochter des Jakob Brunold und der Anna, geb. Hunziker in Aarau geboren. Ich bin in Maladers (Graub.) und Aarau heimatberechtigt. Nach dem Besuche der Gemeinde- und Bezirksschulen trat ich in das aargauische Lehrerinnenseminar ein. 1937 erhielt ich das Primarlehrerinnenpatent. Die zwei folgenden Jahre besuchte ich das aargauische Hauswirtschaftslehrerinnenseminar und schloß mit dem Diplom ab. Nach einem 1jährigen Englandaufenthalt übernahm ich Stellvertretungen an aargauischen Schulen. 1941 wurde ich in Bottenwil als Lehrerin für die Unterstufe und den hauswirtschaftlichen Unterricht gewählt. Im Frühjahr 1945 immatrikulierte ich mich an der Universität Zürich und legte im Sommersemester 1949 die Diplomprüfung für das höhere Lehramt ab. Anschließend begann ich mit der vorliegenden Arbeit. Im Wintersemester 1950/51 war ich bei Herrn Prof. Dr. E. HADORN im genetischen Kurs als Assistentin tätig.

Meine Lehrer im Hauptfache waren die Herren Professoren E. HADORN und H. STEINER und Herr P. D. Dr. H. GLOOR.

